



Nauka i technologia dla żywności

Projekt badawczy

Temat: Spektroskopia w podczerwieni jako narzędzie badań produktów biologicznych i żywnościowych

Wprowadzenie:

W badaniach struktury i właściwości materii stosowane są różne metody fizyczne. Najszersze zastosowanie znalazły metody wykorzystujące zjawiska związane z oddziaływaniem promieniowania elektromagnetycznego na materię. Tymi zagadnieniami zajmuje się spektroskopia. Bada ona i wyjaśnia wpływ tych oddziaływań poprzez obserwację i analizę rozkładu energii promieniowania emitowanego, pochłanianego lub rozpraszanego przez dany obiekt fizyczny. Badanie zjawisk towarzyszących oddziaływaniu promieniowania elektromagnetycznego z materią leży u podstaw spektroskopii.

Spektroskopia w podczerwieni wykorzystuje absorpcję promieniowania elektromagnetycznego o określonej długości fali przez drgające (oscylujące) cząsteczki. Zaabsorbowana porcja energii powoduje wzrost energii oscylacji atomów połączonych wiązaniami chemicznymi i przejście na poziom wzbudzony. Absorbowanie promieniowania przez cząsteczki jest rejestrowane w postaci widma absorpcyjnego.

Spektroskopia odnalazła zastosowanie w badaniu produktów biologicznych i żywnościowych. Technika ta posiada wiele zalet takich jak: szybkość pomiaru, prostota i stosowanie niewielkich ilości badanej substancji.



Cel projektu:

Projekt zapoznaje uczniów z podstawami teoretycznymi spektroskopii w podczerwieni, interpretacją widm uzyskanych za pomocą tej metody oraz z praktycznymi jej zastosowaniami do identyfikacji materiałów i określania struktury związków chemicznych, składników produktów biologicznych i żywnościowych. Uczniowie poznają również inne metody identyfikacji białka w żywności i materiale biologicznym.

Cele kształcenia:

Uczeń:

- Rozwija postawę badawczą oraz zdolności analitycznego myślenia.
- Obserwuje zachodzące zjawiska i wyciąga wnioski.
- Poprzez pracę badawczą uzyskuje satysfakcję oraz wiarę we własne możliwości.
- Definiuje pojęcia spektroskopii, "odcisku palca", częstości grupowej.
- Wymienia rodzaje spektroskopii.
- Opisuje budowę spektroskopu.
- Podaje przykłady drgań wykonywanych przez cząsteczkę.
- Przygotowuje próbkę do badania IR.
- Wykonuje pomiar widma IR.
- Interpretuje uzyskane widmo IR i na jego podstawie ustala skład i strukturę rozpatrywanego związku chemicznego.
- Analizuje różne widma IR, wymieniając grupy funkcyjne w badanych produktach żywnościowych.
- Stosuje programy komputerowe Chemcraft i Origin.
- Wykonuje reakcje charakterystyczne dla białek.

Pytania kluczowe:

W jaki sposób wykorzystujemy spektroskopię w podczerwieni do badania produktów biologicznych i żywnościowych?

Jaką rolę w procesach życiowych ludzkiego organizmu odgrywa białko?

Spektroskopia w podczerwieni jako narzędzie badań produktów biologicznych i żywnościowych

Spektroskopia jest nauką o powstawaniu i interpretacji widm uzyskanych w wyniku oddziaływań promieniowania elektromagnetycznego na materię.

Istnieją różne kryteria klasyfikujące metody spektroskopowe. Jednym z nich jest rodzaj oddziaływania promieniowania z badanym materiałem:

- spektroskopia absorpcyjna
- spektroskopia emisyjna
- spektroskopia rozpraszania.

Techniki spektroskopowe dzieli się również ze względu na rodzaj energii cząsteczek, która na skutek oddziaływania światła umożliwia przejścia między poziomami energetycznymi:

- spektroskopia oscylacyjna
- spektroskopia rotacyjna
- spektroskopia elektronowa
- spektroskopia elektronowego rezonansu paramagnetycznego
- spektroskopia jądrowego rezonansu magnetycznego.

Techniki spektroskopowe stanowią uniwersalne narzędzie badawcze w chemii, fizyce, biologii, diagnostyce, inżynierii materiałowej, medycynie, farmacji i telekomunikacji. Podstawową ideą spektroskopii jest wykorzystanie oddziaływań fal elektromagnetycznych z cząsteczkami związków chemicznych do uzyskania informacji na temat budowy tych cząsteczek i procesów w nich zachodzących. Istnieje wiele metod spektroskopowych, z których największe zastosowanie mają: spektroskopia w podczerwieni (IR), spektroskopia Ramana, spektroskopia w zakresie widzialnym i w ultrafiolecie (UV-VIS), spektroskopia rentgenowska, spektroskopia rezonansu magnetycznego (NMR), spektroskopia rezonansu elektronowego (EPR), spektroskopia korelacji fluorescencji (FCS), spektroskopia dielektryczna, spektroskopia plazmowa, dichroizm kołowy.

Zakres widma promieniowania elektromagnetycznego

Promieniowanie elektromagnetyczne jest rozchodzącym się w przestrzeni zaburzeniem pola elektromagnetycznego. Właściwości fal elektromagnetycznych zależą od długości fali. Promieniowaniem elektromagnetycznym o różnej długości fali są fale radiowe, mikrofałe, podczerwień, światło, ultrafiolet, promieniowanie rentgenowskie i promieniowanie gamma. Każdy zakres spektralny promieniowania związany jest z określonym rodzajem

spektroskopii. Promieniowanie elektromagnetyczne jest traktowane jako strumień nieposiadających masy elementarnych cząstek zwanych fotonami. Energia każdego fotonu zależy od długości fali.

Spektroskopia w podczerwieni jest to rodzaj spektroskopii, w której stosuje się promieniowanie podczerwone. Podczerwień (IR - infrared) obejmuje część widma promieniowania elektromagnetycznego w zakresie liczb falowych $12500 - 10 \text{ cm}^{-1}$, między obszarem widzialnym a mikrofalowym. Podany obszar podzielić można na trzy zakresy o umownych granicach: bliską podczerwień (NIR - near infrared; $12500 - 4000 \text{ cm}^{-1}$), środkową (MIR - mid infrared; $4000 - 400 \text{ cm}^{-1}$) i daleką (FIR - far infrared; $400 - 10 \text{ cm}^{-1}$).

Spektroskopia w podczerwieni już od wczesnych lat czterdziestych XX wieku uważana była za pierwszą fizyczną technikę badawczą o szerokim zastosowaniu do identyfikacji budowy cząsteczek. Wynikiem analizy IR jest widmo, które stanowi bogate źródło informacji. Jakość widma (wiarygodność, czytelność, powtarzalność) zależy zarówno od sposobu przygotowania próbki jak i odpowiednio dobranej metody pomiaru umożliwiającej względnie szybkie uzyskanie wyniku.

Średnia podczerwień jest najczęściej wykorzystywanym w celach analitycznych zakresem promieniowania podczerwonego. Obserwowanym efektem wzbudzenia elektromagnetycznego są drgania (oscylacje) cząsteczek. Energia promieniowania z zakresu podczerwieni podstawowej zawiera się między 48.0-4.8 kJ. Absorpcja tej ilości energii jest wystarczająco duża by powodować oscylację wiązań, jest jednak za mała by powodować ich zrywanie. Pasma absorpcyjne obserwowane w podczerwieni powstają w wyniku drgań atomów tworzących cząsteczkę. Drgania, będące jednoczesnym ruchem wszystkich atomów cząsteczki, odbywające się z jednakową częstością i w zgodnej fazie, nazywamy **drganiami normalnymi**.

Absorpcja promieniowania podczerwonego powoduje zmiany zarówno energii rotacyjnej jak i oscylacyjnej molekuly. Energie poziomów oscylacyjnego i rotacyjnego mające swój wkład w całkowitą energię cząsteczki przejawiają się dwoma postaciami jej ruchu. Pierwsza z nich dotyczy sprężystego drgania atomów połączonych wiązaniami chemicznymi wokół położenia równowagi, druga natomiast przejawia się wirowaniem molekuly wokół własnej osi. Aby doszło do zmiany energii rotacyjnej i/lub oscylacyjnej (wzbudzenia odpowiedniego poziomu energii) cząsteczka musi absorbować promieniowanie o odpowiedniej długości fali (energii kwantów). Absorpcja kwantu promieniowania z zakresu $4000 - 400 \text{ cm}^{-1}$ może skutkować przejściem cząsteczki na wyższy poziom energii oscylacyjnej (jeżeli częstość promieniowania

odpowiada różnicy energii między dwoma poziomami oscylacyjnymi), któremu równocześnie towarzyszy kilka zmian energii rotacyjnej. Opisane wzbudzenie obserwowane jest w postaci pasm widma oscylacyjno - rotacyjnego. W przypadku cząsteczek ciał stałych i cieczy silne oddziaływania międzycząsteczkowe hamują rotacje, zatem większość energii dostarczanej przekazywana jest na zmiany oscylacyjne, podczas gdy wzbudzenia rotacyjne mają wpływ na poszerzenie pasm absorpcyjnych.

Rodzaje drgań wykonywanych przez cząsteczkę klasyfikuje się w zależności od tego, czy w drganiu dominuje zmiana długości wiązań, czy też zmiana kątów między wiązaniami. Rozróżniamy drgania rozciągające, oznaczone symbolem ν i drgania zginające (deformacyjne), oznaczone najczęściej jako δ , γ , ρ , ω , τ . Na drgania deformacyjne składają się drgania wahadłowe, skręcające, kołyszące i nożycowe. Stosuje się także podział drgań na drgania w płaszczyźnie i poza płaszczyznę molekuly lub grupy atomów. Ważną cechą drgań normalnych jest ich symetria. Kierując się tym kryterium drgania można podzielić na symetryczne i asymetryczne względem elementów symetrii cząsteczki lub grupy atomów.

Drgania deformacyjne dotyczyć mogą nie tylko zmiany kątów pomiędzy wiązaniami ze wspólnym atomem, ale również przemieszczenia pewnej grupy atomów w stosunku do pozostałej części cząsteczki, na przykład drgania grupy metylenowej. Jeżeli pewna grupa atomów w cząsteczce wieloatomowej odznacza się wyraźnie większą amplitudą wychyleń w stosunku do pozostałych atomów, wówczas występuje **drżanie grupowe**. Większość grup funkcyjnych daje charakterystyczne pasma absorpcyjne, których położenie w widmie nie zależy od rodzaju cząsteczki. Przy pomocy spektroskopii IR można ustalić jakie grupy funkcyjne obecne są w analizowanym związku.

Analiza tysięcy widm w podczerwieni pozwoliła stwierdzić, że bardzo często pasma absorpcyjne odpowiadające określonym ugrupowaniom atomów występują stale w tym samym, wąskim przedziale częstości, noszącym nazwę **częstości grupowej**, np. grupa CH_3 w $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{Cl}$ ma pewne charakterystyczne drgania, które występują również w widmach innych związków, zawierających w swym składzie tę grupę.

Złożoność wzajemnych oddziaływań drgań odzwierciedla szczególnie obszar „**odcisku palca**” dotyczący środkowej części widma, $1300 - 900 \text{ cm}^{-1}$, w którym pojawiają się pasma absorpcyjne specyficzne dla danej cząsteczki. Są tutaj pasma drgań rozciągających wiązań pojedynczych np. C-C, C-N, C-O oraz wiele pasm odpowiadających drganiom deformacyjnym. Zakres ten wykorzystywany jest do identyfikacji badanej substancji na podstawie porównania jej widma IR z widmem związku wzorcowego. Identyfikacja zakresu

„odcisku palca” stanowi potwierdzenie identyczności badanego związku z wzorcem.

Aby nie popełnić błędu podczas analizy strukturalnej w czasie stosowania częstości grupowych, należy pamiętać o następujących zasadach:

- stan fizyczny związku ma decydujący wpływ na pozycję i liczbę pasm w podczerwieni;
- tablice częstości grupowych zawierają tylko pasma częstości grupowych a w tym samym zakresie mogą występować również inne pasma;
- w tym samym zakresie widma mogą pojawić się dwie różne częstości grupowe, pochodzące od różnych elementów struktury;
- natężenia pasm w tych zakresach mogą znacznie się różnić.

Częstościami grupowymi są np. drgania następujących grup funkcyjnych:

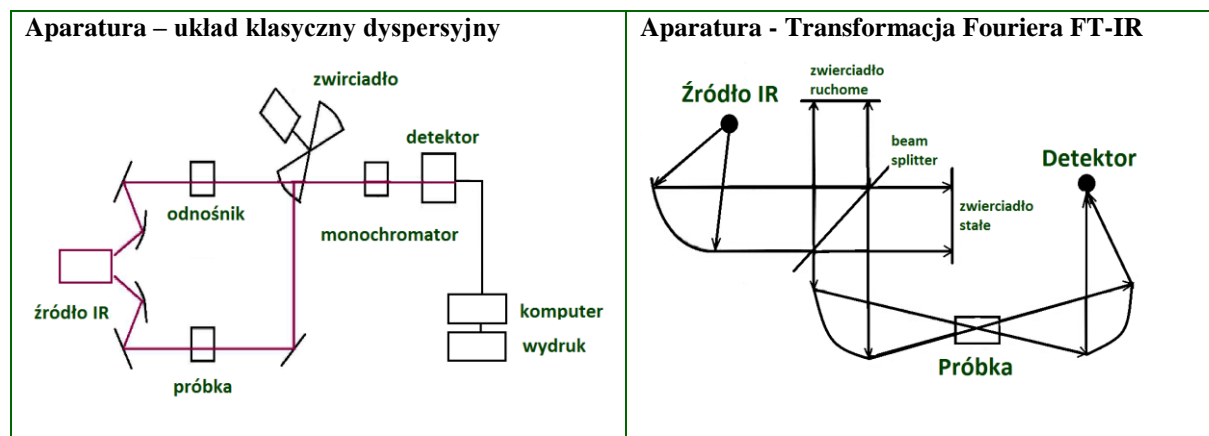
- | | |
|-----------------------------------|------------------------------|
| • – N– H | 3500 – 3250 cm^{-1} |
| • – O– H | 3700 – 3200 cm^{-1} |
| • – C– H | 3300 – 2850 cm^{-1} |
| • – C \equiv N | 2260 – 2215 cm^{-1} |
| • – C \equiv C – | 2260 – 2100 cm^{-1} |
| • >C=O | 1870 – 1540 cm^{-1} |
| • >C=O w aldehydach | 1740 – 1645 cm^{-1} |
| • >C=O w aldehydach aromatycznych | 1715 – 1695 cm^{-1} |

Ważne jest, by hipotetyczne drgania były potwierdzone co najmniej 2-3 pasmami w widmie, inaczej bowiem prawdopodobieństwo postawionej przez nas hipotezy jest małe, wiemy bowiem że wiele częstości grupowych zazębia się bądź wręcz pokrywa.

W czasie weryfikacji wstępnej hipotezy zwracamy uwagę nie tylko na położenie pasm mających "uprawdopodobnić" nasze założenia, ale także dużą wagę przywiązujemy do kształtu tych pasm. Chodzi tu zarówno o natężenie jak i szerokość pasma. Pasma widm IR są bowiem bardzo czułe na różnego typu oddziaływania międzycząsteczkowe, w szczególności na obecność wiązań wodorowych.

Widma absorpcyjne IR otrzymuje się mierząc zależność względnej intensywności światła pochłoniętego od liczby falowej [cm^{-1}] (liczba fal mieszcząca się na odcinku 1 cm). Tradycyjny spektrofotometr dyspersyjny IR składa się z pięciu głównych części: źródła promieniowania, komory, w której umieszcza się próbkę, fotometru, monochromatora i detektora. Źródłem promieniowania podczerwonego jest zazwyczaj ogrzewane elektrycznie do ok. 1500 °C włókno Nernsta (mieszanka tlenków: cyrkonu, itru i erbu) lub Globar

wykonany z węgla krzemu.



Spektrometry z transformacją Fouriera (FT-IR) praktycznie zastąpiły spektrometry dyspersyjne szczególnie w przypadku analiz w zakresie środkowej podczerwieni. Spektroskopia FT-IR charakteryzuje się większą czułością niż klasyczna dyspersyjna IR. Nie wymaga ona intensywnego źródła wzbudzenia. Kompletne uśrednione widmo otrzymuje się w czasie 1-2 sekundy. W tej metodzie wykorzystuje się laser do kalibracji drogi optycznej interferometru. Przyrządy FT-IR są odporne na przypadkowe promieniowanie. W urządzeniach dyspersyjnych detektor nie rozróżnia energii IR ze źródła od energii pochodzącej z zewnątrz - np. żarówki. Spektrometry FT-IR, mają tylko jedno ruchome zwierciadło. Instrumenty dyspersyjne posiadają dużo ruchomych części, które z biegiem czasu rozregulowują się.

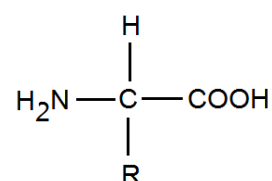
W spektroskopii IR można badać substancje zarówno w stanie gazowym, ciekłym i stałym. Próbka nie powinna zawierać wody, ponieważ silnie absorbuje ona promieniowanie o długości ok. 3700 cm^{-1} i ok. 1630 cm^{-1} (absorpcja ta może przesłonić pasma badanej substancji). Niewątpliwą zaletą technik spektroskopii w podczerwieni jest możliwość badania niewielkich ilości materiału, zaś sposób przygotowania próbki zależy od stanu skupienia substancji i jej właściwości chemicznych. Właściwe wykonanie widma w połączeniu z jego interpretacją pozwala na identyfikację oraz określenie budowy chemicznej i struktury badanego materiału. Spektroskopia IR jest szeroko stosowana do identyfikacji leków, barwników, polimerów. Bogate biblioteki widm IR ułatwiają identyfikację nieznanymi substancji.

Spektroskopia w podczerwieni wykorzystywana jest do podstawowych badań molekuł biologicznych. Początkowo, prowadzono badania nad wyizolowanymi lub syntetyzowanymi

związkami organicznymi budującymi żywe organizmy. Z biegiem czasu zaczęto wykorzystywać tę technikę do poznawania składu biochemicznego tkanek roślinnych i zwierzęcych. Podstawowymi składnikami produktów biologicznych jak i żywnościowych są białka, węglowodany oraz tłuszcze. Spektroskopię IR wykorzystuje się między innymi do badania składu aminokwasowego białek. Uczniowie na zajęciach będą potrafili zinterpretować zarejestrowane widma IR i na ich podstawie ustalić strukturę rozpatrywanego aminokwasu.

Aminokwasy są elementarnymi składnikami białek, enzymów, hormonów peptydowych, wielu toksyn, antybiotyków peptydowych, alkaloidów i szeregu innych produktów naturalnych.

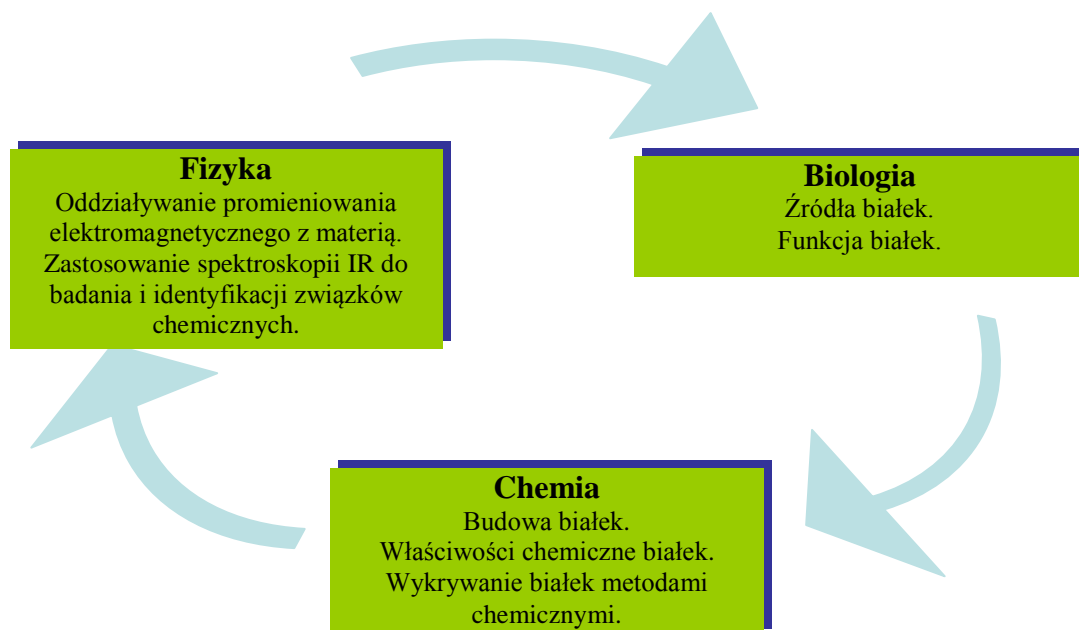
Aminokwasy są związkami chemicznymi, zawierającymi dwie grupy funkcyjne: zasadową grupę aminową (-NH₂, -NH) oraz kwasową grupę karboksylową (-COOH). Każdy aminokwas oprócz grup funkcyjnych zawiera atom wodoru i charakterystyczny dla siebie podstawnik (R).



Podstawniki te mogą stanowić takie grupy jak reszty alifatyczne, aromatyczne, heterocykliczne, grupa hydroksylowa, tiolowa, a także dodatkowa grupa aminowa bądź karboksylowa. Dzięki grupom funkcyjnym na podstawie widma IR możemy określić dokładnie budowę aminokwasu.

Podczas pracy na zajęciach uczniowie zapoznają się z budową i zasadą działania spektrometru FTIR Nicolet, model 6700. Obejrzą gotowe widma produktów biologicznych i żywnościowych (olej spożywczy, ser żółty, masło, mięso, miód). Uczniowie samodzielnie przygotowują próbki do pomiaru widm w spektroskopii w podczerwieni. Po zmierzeniu widm IR zinterpretują je przy użyciu programu ORIGIN i ostatecznie ustalą strukturę rozpatrywanego związku chemicznego. Uczniowie poznają również metody chemiczne pozwalające zidentyfikować białko w materiałach biologicznych. Obsługując program Chemcraft zapoznają się drganiami normalnymi prostych związków organicznych.

Integracja treści przedmiotowych:



Wykorzystanie matematyki i technologii informacyjnej:

- gromadzenie i porządkowanie informacji niezbędnych podczas wykonywania kolejnych zadań
- wykorzystanie programu ORIGIN do wygenerowania widma IR badanego związku
- wykorzystanie programu Gaussian 03 do obliczeń teoretycznych drgań normalnych przykładowych związków chemicznych
- wykorzystanie programu Chemcraft do wizualizacji drgań normalnych

Materiały i środki dydaktyczne

- spektrometr FTIR, model 6700,
- komputer z oprogramowaniem ORIGIN do generowania eksperymentalnych widm IR
- komputer z oprogramowaniem Chemcraft do wizualizacji drgań normalnych cząsteczek,
- aminokwasy firmy Fluka,
- materiały i odczynniki niezbędne do przygotowania próbek do pomiaru widm IR,
- zestaw przygotowanych odczynników do wykrywania białka w próbce,
- szkło i drobny sprzęt laboratoryjny,
- instrukcje do ćwiczeń,
- karty pracy.

Metody pracy

- praca laboratoryjna - wykonanie reakcji charakterystycznych na wykrywanie białka,
- praca z komputerem z wykorzystaniem programu Chemcraft w celu wizualizacji drgań normalnych cząsteczek,
- praca z wykorzystaniem spektrometru FTIR - pomiar widm wybranych aminokwasów,
- praca z komputerem z wykorzystaniem programu ORIGIN w celu opracowania zarejestrowanych widm IR,
- dyskusja wyników.

Etapy projektu:

etap	działania	czas
Organizacja	Wprowadzenie teoretyczne w temat zajęć. Podział na grupy (podgrupy).	15 minut
Planowanie	Przedstawienie zadań do realizacji podczas zajęć. Ustalenie kolejności i czasu wykonywania zadań.	15 minut
Realizacja	<ol style="list-style-type: none">1. Pomiar widma aminokwasu na spektrometrze FTIR.2. Wykrywanie wiązania peptydowego w reakcji biuretowej.3. Wykrywanie aminokwasów aromatycznych w reakcji ksantoproteinowej.4. Wykrywanie aminokwasów siarkowych w reakcji z solami ołowiu.5. Wykrywanie białek z wykorzystaniem czynników denaturujących.6. Analiza drgań normalnych wybranego aminokwasu przy użyciu programu Chemcraft.7. Analiza widm IR wybranych produktów żywnościowych.8. Opracowanie widma IR zmierzonego aminokwasu w programie ORIGIN.9. Przygotowanie prezentacji w programie PowerPoint uwzględniającej widmo zmierzonego aminokwasu oraz schematyczne przedstawienie jego drgań normalnych.	30 minut 20 minut 20 minut 20 minut 20 minut 20 minut 20 minut 45 minut 45 minut
Prezentacja	Karty pracy. Prezentacja drgań normalnych wybranego aminokwasu, wykonana przy użyciu programu Paint. Prezentacja widma IR zmierzonego aminokwasu wraz z przypisaniem drgań normalnych określonym pasmom.	-
Ocena	Samoocena Ocena koleżeńska Ocena opisowa (nauczyciel)	-

Szczegółowy opis zadań na etapie realizacji projektu:

Zadanie 1

Pomiar widma aminokwasu na spektrometrze FTIR Nicolet, model 6700.

Opis zadania (co robimy, dlaczego)

W tym zadaniu uczniowie zapoznają się z metodą analizy substancji chemicznych, wykorzystującą nowoczesną aparaturę pomiarowo - badawczą. Spektroskopia w podczerwieni wykorzystywana jest do badań głównych molekuł biologicznych. Dzięki grupom funkcyjnym na podstawie widma IR możemy określić dokładnie budowę związku chemicznego. Dane pomiarowe zapisane zostaną na nośniku zewnętrznym i posłużą uczniom w zadaniu nr 8 do analizy widma zmierzonego aminokwasu.

Możliwe trudności w czasie realizacji zadania (zapobieganie, radzenie sobie z trudnościami)

Praca w laboratorium wymaga cierpliwości i opanowania. Trudnością może okazać się właściwe złożenie pastylkarki, jak również obsługa prasy hydraulicznej. W tej sytuacji uczeń powinien skonsultować się z prowadzącym zajęcia.

Kto wykonuje zadanie (uczeń samodzielnie, uczniowie w parach,)

Zadanie wykonują uczniowie w parach. Jeden uczeń przygotowuje do pomiaru próbkę odnośnikową, drugi - próbkę losowo przydzielonego aminokwasu.

Sposób wykonania

Zadanie to uczeń wykonuje zgodnie ze wskazówkami zamieszczonymi w instrukcji nr 1, która znajduje się w dalszej części opracowania oraz pod kontrolą prowadzącego zajęcia.

Wskazówki dla ucznia (na co zwrócić uwagę, czego nie przeoczyć, co pominąć)

Szczególną uwagę podczas wykonywania zadania nr 1 należy zwrócić na następujące kwestie:

- Niewątpliwą zaletą spektroskopii IR jest możliwość badania niewielkich ilości materiału, dlatego należy pamiętać, aby pobierać minimalną ilość związku do pomiaru.
- Przygotowanie próbki do pomiaru IR wymaga dokładnego rozdrobnienia związku w bromku potasu, dlatego starannie ucieramy związek z KBr w moździerzu.
- Wszystkie elementy służące do przygotowania pastylki powinny być czyste i suche.
- Pastylkę należy starannie włożyć do statywu a następnie w komorze pomiarowej, którą dokładnie zamykamy.
- W trakcie pomiaru nie wolno otwierać komory z pastylką.

- Po pomiarze należy opisać widmo.

Oczekiwany efekt pracy ucznia (zdjęcie, wypełniona karta pracy)

Oczekiwany efekt wykonania zadania nr 1 jest opanowanie techniki przygotowywania próbek do pomiaru oraz opanowanie techniki pomiaru widm w spektroskopii w podczerwieni. Po wykonaniu tego zadania uczeń otrzymuje elektroniczny zapis danych, które posłużą mu do wykonania zadania nr 8.

Oczekiwania wobec nauczyciela opiekuna

Nauczyciel powinien cały czas nadzorować pracę ucznia, przypominać o zachowaniu czystości na każdym etapie wykonywanego zadania. Nauczyciel powinien sprawdzić poprawność złożonej pastylkarki oraz nadzorować wszystkie etapy poprzedzające pomiar IR. Nauczyciel powinien również dyscyplinować uczniów do właściwego zachowania w pomieszczeniu, w którym znajduje się cenny sprzęt naukowo - pomiarowy.

Na początku wykonywanego zadania nauczyciel przydziela próbkę aminokwasu do pomiaru widma IR, na koniec zadania umieszcza zapisane widmo na nośniku zewnętrznym, aby w zadaniu nr 8 udostępnić dane do analizy widma.

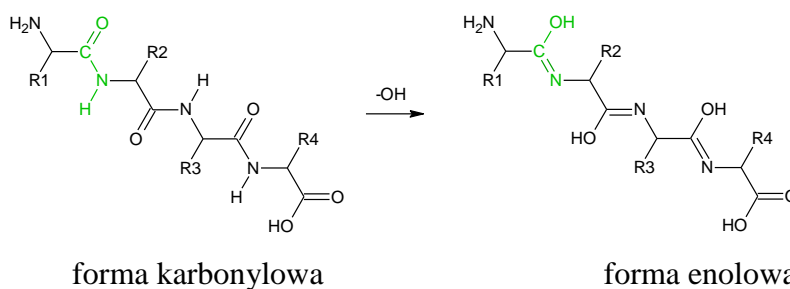
Rolą nauczyciela jest także służenie uczniowi radą i pomocą podczas wykonywania zadania.

Zadanie 2

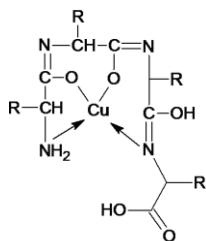
Wykrywanie wiązania peptydowego w reakcji biuretowej.

Opis zadania (co robimy, dlaczego)

Celem ćwiczenia jest wykrywanie wiązań peptydowych. Reakcję biuretową dają białka oraz peptydy mające więcej niż dwa wiązania peptydowe. W środowisku zasadowym układy wiązań peptydowych dają z jonami miedzi (Cu^{2+}) barwne kompleksy. Aby reakcja przebiegła prawidłowo kationy Cu^{2+} muszą być związane w postaci kompleksu, co chroni je przed wytracaniem w postaci wodorotlenku miedzi. Wiązanie peptydowe w środowisku zasadowym ulega enolizacji (przemiana formy karbonylowej ketonu lub aldehydu w enol), zgodnie z równaniem:



Białko lub peptyd, w którym wiązania peptydowe uległy enolizacji, reagują z jonami Cu^{2+} dając kompleks barwy niebieskofioletowej.



Kompleks tetrapeptydu z jonami miedzi.

Reakcja biuretowa jest powszechnie stosowana przy sprawdzaniu obecności wolnego białka we krwi i innych płynach ustrojowych człowieka i zwierząt. Występowanie dużych ilości białka wskazuje zwykle na uszkodzenia organów wewnętrznych. Reakcja nie działa poprawnie w przypadku występowania w badanym płynie stężenia jonów potasu, dlatego nie można jej wykorzystać do testów na zawartość białka soków owocowych.

Możliwe trudności w czasie realizacji zadania (zapobieganie, radzenie sobie z trudnościami)

Praca w laboratorium chemicznym wymaga cierpliwości, dokładności oraz dobrej znajomości podstaw chemii i zasad bezpiecznej pracy w laboratorium. Najlepszym rozwiązaniem potencjalnych problemów jest właściwe przygotowanie ucznia do zajęć i współpraca prowadzącego zajęcia z uczniem.

Kto wykonuje zadanie (uczeń samodzielnie, uczniowie w parach,)

Zadanie wykonuje uczeń samodzielnie.

Sposób wykonania

Zadanie to uczeń wykonuje zgodnie ze wskazówkami zamieszczonymi w instrukcji nr 2, która znajduje się w dalszej części opracowania.

Wskazówki dla ucznia (na co zwrócić uwagę, czego nie przeoczyć, co pominąć)

Jest to zadanie proste. Uczeń powinien skupić się na tym, żeby postępować zgodnie z instrukcją nr 2, właściwie odczytać kolor mieszanin w probówkach i zanotować wyniki w kartach pracy.

Oczekiwany efekt pracy ucznia (zdjęcie, wypełniona karta pracy)

Oczekiwany efekt wykonania zadania nr 2 jest zapoznanie się ze sprzętem laboratoryjnym, opanowanie prostych czynności laboratoryjnych, odczytywanie i interpretacja wyników prostych analiz chemicznych oraz wypełnienie kart pracy do zadania nr 2.

Oczekiwania wobec nauczyciela opiekuna

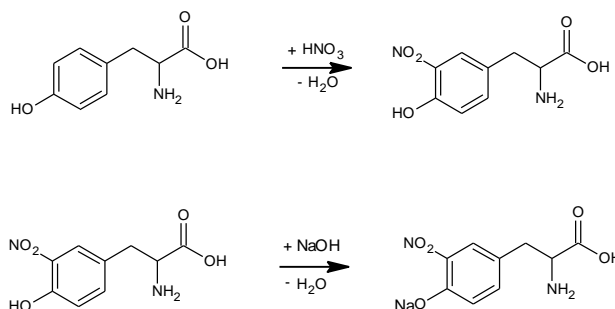
Nauczyciel powinien nadzorować wykonywane przez ucznia czynności. Rolą nauczyciela jest również dbanie o bezpieczeństwo pracy w laboratorium chemicznym.

Zadanie 3

Wykrywanie aminokwasów aromatycznych w reakcji ksantoproteinowej.

Opis zadania (co robimy, dlaczego)

Reakcja ksantoproteinowa, służy do wykrywania białka w produktach biologicznych i żywnościowych, ściślej - do wykrywania obecności w białku aminokwasów aromatycznych (np. fenyloalanina, tyrozyna). Pod wpływem stężonego kwasu azotowego(V) białko ścina się i przybiera intensywne żółte zabarwienie.



Schemat reakcji ksantoproteinowej na przykładzie tyrozyny.

Możliwe trudności w czasie realizacji zadania (zapobieganie, radzenie sobie z trudnościami)

Praca w laboratorium chemicznym wymaga cierpliwości, dokładności oraz dobrej znajomości podstaw chemii i zasad bezpiecznej pracy w laboratorium. Najlepszym rozwiązaniem potencjalnych problemów jest właściwe przygotowanie ucznia do zajęć i współpraca prowadzącego zajęcia z uczniem.

Kto wykonuje zadanie (uczeń samodzielnie, uczniowie w parach,)

Zadanie wykonuje uczeń samodzielnie.

Sposób wykonania

Zadanie to uczeń wykonuje zgodnie ze wskazówkami zamieszczonymi w instrukcji nr 3, która znajduje się w dalszej części opracowania.

Wskazówki dla ucznia (na co zwrócić uwagę, czego nie przeoczyć, co pominąć)

Stężony kwas azotowy (V) jest cieczą żrącą i należy zachować środki ostrożności przewidziane przy pracy ze stężonymi kwasami. Należy zachować spokój i porządek przy wykonywaniu doświadczenia. Uczeń powinien skupić się na tym, żeby postępować zgodnie z instrukcją nr 3 i zanotować wyniki w kartach pracy.

Oczekiwany efekt pracy ucznia (zdjęcie, wypełniona karta pracy)

Oczekiwany efekt wykonania zadania nr 3 jest zapoznanie się ze sprzętem laboratoryjnym, opanowanie prostych czynności laboratoryjnych, odczytywanie i interpretacja wyników prostych analiz chemicznych oraz wypełnienie kart pracy do zadania

nr 3.

Oczekiwania wobec nauczyciela opiekuna

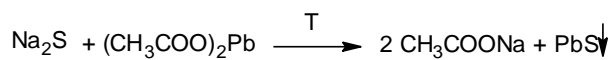
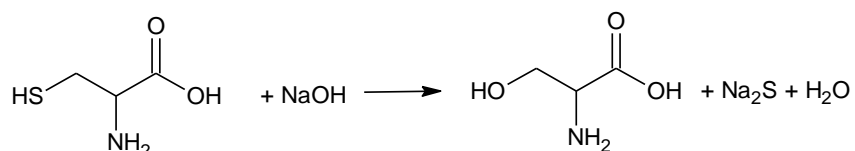
Nauczyciel powinien nadzorować wykonywane przez ucznia czynności. Rolą nauczyciela jest również dbanie o bezpieczeństwo pracy w laboratorium chemicznym.

Zadanie 4

Wykrywanie aminokwasów siarkowych w reakcji z solami ołowiu.

Opis zadania (co robimy, dlaczego)

Aminokwasy zawierające w łańcuchu bocznym siarkę (cysteina, cystyna) można wykryć w reakcji z solami ołowiu. Związki te ogrzewane w temperaturze 100°C, w środowisku zasadowym ulegają hydrolizie. Uwolniona w postaci jonów siarczkowych siarka tworzy z jonami ołowiowymi (II) czarny, nierozpuszczalny osad siarczku ołowiu (II).



Możliwe trudności w czasie realizacji zadania (zapobieganie, radzenie sobie z trudnościami)

Praca w laboratorium chemicznym wymaga cierpliwości, dokładności oraz dobrej znajomości podstaw chemii i zasad bezpiecznej pracy w laboratorium. Najlepszym rozwiązaniem potencjalnych problemów jest właściwe przygotowanie ucznia do zajęć i współpraca prowadzącego zajęcia z uczniem.

Kto wykonuje zadanie (uczeń samodzielnie, uczniowie w parach,)

Zadanie wykonuje uczeń samodzielnie.

Sposób wykonania

Zadanie to uczeń wykonuje zgodnie ze wskazówkami zamieszczonymi w instrukcji nr 4, która znajduje się w dalszej części opracowania.

Wskazówki dla ucznia (na co zwrócić uwagę, czego nie przeoczyć, co pominąć)

Uczeń powinien skupić się na tym, żeby postępować zgodnie z instrukcją nr 4 i zanotować wyniki w kartach pracy. Uczeń powinien zachować ostrożność przy ogrzewaniu zawartości probówki nad palnikiem.

Oczekiwany efekt pracy ucznia (zdjęcie, wypełniona karta pracy)

Oczekiwany efekt wykonania zadania nr 4 jest zapoznanie się ze sprzętem

laboratoryjnym, opanowanie prostych czynności laboratoryjnych, odczytywanie i interpretacja wyników prostych analiz chemicznych oraz wypełnienie kart pracy do zadania nr 4.

Oczekiwania wobec nauczyciela opiekuna

Nauczyciel powinien nadzorować wykonywane przez ucznia czynności. Rolą nauczyciela jest również dbanie o bezpieczeństwo pracy w laboratorium chemicznym.

Zadanie 5

Wykrywanie białek z wykorzystaniem czynników denaturujących.

Opis zadania (co robimy, dlaczego)

Pod wpływem działania wysokiej temperatury białka ulegają nieodwracalnej denaturacji. Dochodzi wówczas do zmiany struktury białek, w wyniku czego stają się one nieaktywne biologicznie. Zjawisko to zachodzi w wyniku utraty drugo-, trzecio- i czwartorzędowej struktury. Pierwszorzędowa struktura białka nie ulega zmianie, zachowane zostają mocne wiązania peptydowe, a zniszczeniu ulegają wiązania wodorowe, oddziaływania elektrostatyczne, hydrofobowe oraz mostki disulfidowe. Denaturacja białka następuje pod wpływem podwyższonej temperatury, zbyt wysokiego lub zbyt niskiego stężenia jonów wodorowych (kwasów i zasad), rozpuszczalników organicznych (alkohol, aceton), wysokich stężeń soli metali ciężkich.

Możliwe trudności w czasie realizacji zadania (zapobieganie, radzenie sobie z trudnościami)

Praca w laboratorium chemicznym wymaga cierpliwości, dokładności oraz dobrej znajomości podstaw chemii i zasad bezpiecznej pracy w laboratorium. Najlepszym rozwiązaniem potencjalnych problemów jest właściwe przygotowanie ucznia do zajęć i współpraca prowadzącego zajęcia z uczniem.

Kto wykonuje zadanie (uczeń samodzielnie, uczniowie w parach,)

Zadanie wykonuje uczeń samodzielnie.

Sposób wykonania

Zadanie to uczeń wykonuje zgodnie ze wskazówkami zamieszczonymi w instrukcji nr 5, która znajduje się w dalszej części opracowania.

Wskazówki dla ucznia (na co zwrócić uwagę, czego nie przeoczyć, co pominąć)

Uczeń powinien przestrzegać zasad bezpiecznej pracy w laboratorium. W razie niebezpieczeństwa powiadomić nauczyciela. Uczeń powinien skupić się na tym, żeby postępować zgodnie z instrukcją nr 5 i zanotować wyniki w kartach pracy.

Oczekiwany efekt pracy ucznia (zdjęcie, wypełniona karta pracy)

Oczekiwanym efektem wykonania zadania nr 5 jest zapoznanie się ze sprzętem laboratoryjnym, opanowanie prostych czynności laboratoryjnych, odczytywanie i interpretacja wyników prostych analiz chemicznych oraz wypełnienie kart pracy do zadania nr 5.

Oczekiwania wobec nauczyciela opiekuna

Nauczyciel powinien nadzorować wykonywane przez ucznia czynności. Rolą nauczyciela jest również dbanie o bezpieczeństwo pracy w laboratorium chemicznym.

Zadanie 6

Analiza drgań normalnych wybranego aminokwasu przy użyciu programu Chemcraft.

Opis zadania (co robimy, dlaczego)

W tym zadaniu uczniowie analizują drgania normalne wybranego aminokwasu przy użyciu programu Chemcraft. Uczniowie otrzymują wyniki obliczeń częstości drgań normalnych, wcześniej zoptymalizowanych cząsteczek aminokwasów. Obliczeń dokonano przy użyciu programu Gaussian 03. Uczniowie zapoznają się z położeniem pasm przypisanych drganiom konkretnych grup funkcyjnych. Animacja drgań uzyskana dzięki programowi Chemcraft uzmysłowi uczniom zachowanie cząsteczki w wyniku absorpcji promieniowania podczerwonego o określonej długości fali.

Możliwe trudności w czasie realizacji zadania (zapobieganie, radzenie sobie z trudnościami)

Trudności mogą wystąpić w trakcie wypełniania kart pracy, przedstawiania graficznego drgań normalnych. W tej sytuacji uczeń powinien wzorować się na przedstawieniu graficznym drgań normalnych umieszczonym w załączniku do kart pracy do zadania nr 6.

Kto wykonuje zadanie (uczeń samodzielnie, uczniowie w parach,)

Zadanie wykonują uczniowie w parach.

Sposób wykonania

Zadanie to uczeń wykonuje zgodnie ze wskazówkami zamieszczonymi w instrukcji nr 6, która znajduje się w dalszej części opracowania.

Wskazówki dla ucznia (na co zwrócić uwagę, czego nie przeoczyć, co pominąć)

Jest to zadanie proste, niewymagające szczególnej znajomości tematu. Uczeń powinien skupić się na tym, żeby starannie przedstawić graficzny obraz głównych drgań wybranego aminokwasu.

Oczekiwany efekt pracy ucznia (zdjęcie, wypełniona karta pracy)

Oczekiwanym efektem wykonania zadania nr 6 jest zrozumienie mechanizmu drgania

atomów w cząsteczce. Oczekiwanym efektem pracy ucznia będzie wykonanie schematycznych rysunków, które posłużą do wykonania zadania nr 9.

Oczekiwania wobec nauczyciela opiekuna

Rolą nauczyciela podczas realizacji tego zadania jest przygotowanie danych do analizy w programie Chemcraft. Nauczyciel nadzoruje wykonywane przez ucznia czynności.

Zadanie 7

Analiza widm IR wybranych produktów żywnościowych.

Opis zadania (co robimy, dlaczego)

W tym zadaniu uczniowie analizują widma IR wybranych produktów biologicznych i żywnościowych. Uczniowie dokonują analizy jakościowej, określają jakie grupy funkcyjne/wiązania występują w zmierzonych produktach. Dokonują tego na podstawie położenia pasm absorpcyjnych odczytanych z widm oraz tabeli załączonej do kart pracy do zadania nr 7 (Przypisania pasm średniej podczerwieni drganiom normalnym wiązań / grup funkcyjnych). Uczniowie zapoznają się z położeniem pasm przypisanych drganiom konkretnych grup funkcyjnych. Zadanie pomaga zrozumieć, że przy pomocy spektroskopii IR można ustalić jakie grupy funkcyjne obecne są w analizowanym produkcie.

Możliwe trudności w czasie realizacji zadania (zapobieganie, radzenie sobie z trudnościami)

Trudności mogą wynikać z niepewności jakiemu drganiu normalnemu przypisać pasmo, w przypadku gdy pasmo leży w nachodzących na siebie obszarach drgań normalnych kilku grup funkcyjnych. W tym przypadku należy zastanowić się jakich związków chemicznych (grup funkcyjnych) spodziewamy się w zmierzonym produkcie żywnościowym i na tej podstawie dokonać wyboru grupy funkcyjnej.

Kto wykonuje zadanie (uczeń samodzielnie, uczniowie w parach)

Zadanie wykonują uczniowie w parach.

Sposób wykonania

Zadanie to uczeń wykonuje zgodnie ze wskazówkami zamieszczonymi w instrukcji nr 7, która znajduje się w dalszej części opracowania.

Wskazówki dla ucznia (na co zwrócić uwagę, czego nie przeoczyć, co pominąć)

Nie należy się przerażać tematem tego zadania. Uczeń powinien analizować widmo cierpliwie pasmo za pasmem, zaczynając od pasm silnych, odczytując ich liczbę falową i na podstawie tabeli załączonej do kart pracy do zadania nr 7 (Przypisania pasm średniej podczerwieni drganiom normalnym wiązań / grup funkcyjnych) przypisać drganie normalne właściwej

grupie funkcyjnej. Pośpiech i chaotyczna praca nie są wskazane.

Oczekiwany efekt pracy ucznia (zdjęcie, wypełniona karta pracy)

Oczekiwany efekt wykonania zadania nr 7 jest zrozumienie, iż większość grup funkcyjnych daje charakterystyczne pasma absorpcyjne, których położenie w widmie nie zależy od rodzaju cząsteczki. Zadanie pomaga zrozumieć, że przy pomocy spektroskopii IR można ustalić jakie grupy funkcyjne obecne są w analizowanym produkcie. Oczekiwany efekt pracy ucznia będzie opisanie wybranych pasm widm IR produktów biologicznych i żywnościowych, stanowiących załącznik do Kart pracy do zadania 7.

Oczekiwania wobec nauczyciela opiekuna

Rolą nauczyciela podczas realizacji tego zadania jest przydzielenie widma produktu żywnościowego, instruowanie ucznia oraz nadzorowanie wykonywanych przez niego zadań.

Zadanie 8

Opracowanie widma IR zmierzonego aminokwasu w programie ORIGIN.

Opis zadania (co robimy, dlaczego)

To zadanie uczniowie wykonują w pracowni komputerowej zgodnie z instrukcją nr 8. W oparciu o zarejestrowany w pracowni spektroskopowej i zapisany na nośniku zewnętrznym pomiar IR aminokwasu uczniowie generują widmo IR przy użyciu programu komputerowego ORIGIN. Uczniowie dokonują analizy jakościowej, określają jakie grupy funkcyjne/ wiązania występują w zmierzonym związku. Dokonują tego na podstawie położenia pasm absorpcyjnych odczytanych z widm oraz tabeli załączonej do kart pracy do zadania nr 7 (Przypisania pasm średniej podczerwieni drganiom normalnym wiązań / grup funkcyjnych). Uczniowie zapoznają się z położeniem pasm przypisanych drganiom konkretnych grup funkcyjnych. Zadanie pomaga zrozumieć, że przy pomocy spektroskopii IR można ustalić jakie grupy funkcyjne obecne są w analizowanym produkcie.

Możliwe trudności w czasie realizacji zadania (zapobieganie, radzenie sobie z trudnościami)

Narzędziem pracy w tym zadaniu jest program komputerowy ORIGIN, dlatego trudności mogą wynikać z nieznamości tego programu. Dla ułatwienia tego zadania w opracowanej instrukcji zamieszczono "screiny" i komentarze do kolejno wykonywanych operacji.

Kto wykonuje zadanie (uczeń samodzielnie, uczniowie w parach,)

Zadanie wykonują uczniowie w parach.

Sposób wykonania

Zadanie to uczniowie wykonują zgodnie ze wskazówkami zamieszczonymi w instrukcji nr 8,

która znajduje się w dalszej części opracowania.

Wskazówki dla ucznia (na co zwrócić uwagę, czego nie przeoczyć, co pominąć)

Pośpiech i chaotyczna praca nie są wskazane. Uczeń powinien etapami podpisać osie współrzędnych, podpisać widmo oraz jego główne pasma.

Oczekiwany efekt pracy ucznia (zdjęcie, wypełniona karta pracy)

Oczekiwany efekt wykonania zadania nr 8 jest zrozumienie, iż większość grup funkcyjnych daje charakterystyczne pasma absorpcyjne, których położenie w widmie nie zależy od rodzaju cząsteczki. Zadanie pomaga zrozumieć, że przy pomocy spektroskopii IR można ustalić jakie grupy funkcyjne obecne są w analizowanym produkcie. Oczekiwany efekt pracy ucznia będzie opisanie wybranych pasm widma IR aminokwasu.

Oczekiwania wobec nauczyciela opiekuna

Rolą nauczyciela podczas realizacji tego zadania jest instruowanie ucznia oraz nadzorowanie wykonywanych przez niego zadań. Nauczyciel powinien służyć radą i pomocą podczas wykonywania zadania.

Zadanie 9

Przygotowanie prezentacji w programie PowerPoint uwzględniającej widmo zmierzonego aminokwasu oraz schematyczne przedstawienie jego drgań normalnych.

Opis zadania (co robimy, dlaczego)

Wykorzystując dane z zadania nr 8 oraz umiejętności zdobyte po wykonaniu zadania nr 6 uczeń przygotowuje krótką prezentację w programie PowerPoint. W prezentacji uczeń przedstawia widmo IR zmierzonego aminokwasu oraz graficzny obraz wybranych drgań normalnych charakterystycznych dla tego aminokwasu. Prezentacja jest zwieńczeniem pracy uczniów.

Możliwe trudności w czasie realizacji zadania (zapobieganie, radzenie sobie z trudnościami)

Trudności związane z wykonaniem tego zadania mogą być związane z różnym stopniem opanowania przez uczniów obsługi komputera, a szczególnie programu PowerPoint oraz Paint, niezbędnych do zilustrowania i podsumowania wykonanych zadań.

Kto wykonuje zadanie (uczeń samodzielnie, uczniowie w parach,)

Zadanie wykonują uczniowie w parach.

Sposób wykonania

Zadanie to uczeń wykonuje zgodnie ze wskazówkami zamieszczonymi w instrukcji nr 9, która znajduje się w dalszej części opracowania.

Wskazówki dla ucznia (na co zwrócić uwagę, czego nie przeoczyć, co pominąć)

Prezentacja stanowi podsumowanie pracy wykonanej w zadaniach 1, 6-8. Niezbędne jest przedstawienie widma IR zmierzonego aminokwasu oraz graficzne przedstawienie wybranych drań normalnych związku. Pozostałe informacje zawarte w prezentacji zależą od pomysłowości i kreatywności ucznia.

Oczekiwany efekt pracy ucznia (zdjęcie, wypełniona karta pracy)

Oczekiwany efekt wykonania zadania nr 9 jest opracowanie wykonane w programie PowerPoint, zawierające obraz widma IR zmierzonego aminokwasu oraz graficzne przedstawienie wybranych drań normalnych związku.

Oczekiwania wobec nauczyciela opiekuna

Rolą nauczyciela podczas realizacji tego zadania jest instruowanie ucznia oraz nadzorowanie wykonywanych przez niego zadań. Nauczyciel powinien służyć radą i pomocą podczas wykonywania zadania.

Instrukcja - krok po kroku dla ucznia (w języku ucznia)

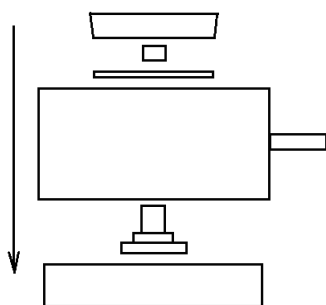
Instrukcja nr 1

Pomiar widma aminokwasu na spektrometrze FTIR, model 6700.

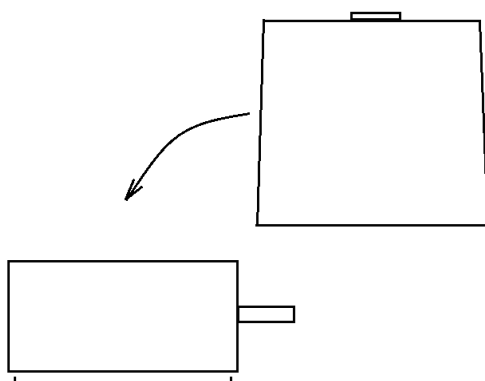
Otrzymałeś suchy sproszkowany bromek potasu KBr oraz próbkę aminokwasu. Twoim zadaniem jest wykonanie dwóch pomiarów: tła (widmo czystego bromku potasu) oraz aminokwasu. W zadaniu nr 8 dokonasz analizy widma.

Przygotowanie próbki KBr do pomiaru tła:

- W moździerz agatowym umieść około 100 mg KBr ("dwie szpatułki"). Pamiętaj, aby przed każdorazowym nakładaniem związku szpatułka była bezwzględnie czysta. Całość dokładnie utrzeć.
- Umieść roztarty KBr w komorze pastylkarki, upewniając się że wszystkie elementy są idealnie czyste oraz że stalowe krążki dociskowe umieszczone są prawidłowo w otworze pastylkarki.
 - złóż zgodnie z rysunkiem elementy podstawy pastylkarki



- umieść KBr w komorze pastylkarki
- umieść część górną pastylkarki na podstawie



- Umieść pastylkarkę pod prasą hydrauliczną i sprasuj próbkę siłą 80 kN (zakres czerwonego paska na skali).

- Wyjmij pastylkę z pastylkarki i umieść w uchwycie na pastylki a następnie w komorze spektrometru.
- Dokonaj pomiaru z zastosowaniem parametrów pracy spektrometru podanych przez nauczyciela
 - naciśnij komendę "background"
 - Gdy na monitorze pojawi się informacja "Pomiar widma tła. Proszę przygotować się do pomiaru widma tła." naciśnij komendę "OK".

Przygotowanie próbki aminokwasu do pomiaru:

- W moździerz agatowym umieść 0.5 - 1 mg badanej próbki (odrobinę na końcówce szpatułki) i około 100 mg KBr (dwie szpatułki). Pamiętaj, aby przed każdorazowym nakładaniem związku szpatułka była bezwzględnie czysta. Całość dokładnie utrzeć.
- Umieść mieszaninę w komorze pastylkarki, upewniając się że wszystkie elementy są idealnie czyste oraz że stalowe krążki dociskowe umieszczone są prawidłowo w otworze pastylkarki.
- Umieść pastylkarkę pod prasą hydrauliczną i sprasuj próbkę siłą 80 kN (zakres czerwonego paska na skali).
- Wyjmij pastylkę z pastylkarki i umieść w uchwycie na pastylki a następnie w komorze spektrometru.
- Dokonaj pomiaru z zastosowaniem parametrów pracy spektrometru podanych przez nauczyciela
 - naciśnij komendę "sample"
 - Gdy na monitorze pojawi się informacja " Próbka. Proszę przygotować się do pomiaru widma próbki." naciśnij komendę "OK".
- Zapisz zmierzone widmo najpierw automatycznie z zaznaczeniem nazwy widma, później jako dokument tekstowy z rozszerzeniem *.CSV. Następnie otwórz dokument tekstowy i w całości tekstu zamień parametr "m" na spację i ten tekst zapisz z rozszerzeniem *.txt.

Instrukcja nr 2

Wykrywanie wiązania peptydowego w reakcji biuretowej.

Reakcja biuretowa:

- Przygotuj trzy czyste i suche probówki, oznacz je A, B, C.
- Do probówki A dodaj 1 ml roztworu białka jaja kurzego i 2 ml 10% wodnego roztworu wodorotlenku sodu oraz 2-3 krople 1% roztworu siarczanu (VI) miedzi (II).
- Do probówki B dodaj 1 ml roztworu białek jaja kurzego oraz 2-3 krople 1% roztworu siarczanu (VI) miedzi (II).
- Do probówki C dodaj 1 ml wody destylowanej i 2 ml 10% wodnego roztworu wodorotlenku sodu oraz 2-3 krople 1% roztworu siarczanu (VI) miedzi (II).
- Zawartość probówek zamieszaj.
- Porównaj zabarwienie w probówkach.
- Wyniki zapisz w karcie pracy nr 1 i wyciągnij wniosek.

Instrukcja nr 3

Wykrywanie aminokwasów aromatycznych w białku jaja kurzego w reakcji ksantoproteinowej.

- I etap: do probówki wlej około 1 ml roztworu białka jaja kurzego i dodaj 6 kropli stężonego kwasu azotowego (V). Zanotuj obserwację w karcie pracy nr 3.
- II etap: uchwyc probówkę drewnianym uchwytem i ogrzej mieszaninę w płomieniu palnika. Zanotuj obserwację w karcie pracy nr 3.
- III etap: probówkę z zawartością ochłódź w strumieniu zimnej wody i dodaj 2 ml 20% roztworu wodorotlenku sodu. Zanotuj obserwację w karcie pracy nr 3.

Instrukcja nr 4

Wykrywanie aminokwasów siarkowych w reakcji z solami ołowiu.

- Odmierz do probówki 1 ml białka jaja kurzego.
- Dodaj 2 ml 20 % wodorotlenku sodowego oraz 0,5 ml wodnego 0,5% roztworu octanu ołowiu (II).
- Wymieszaj i ogrzewaj w płomieniu palnika przez 3–5 min.
- Obserwacje zanotuj w kartach pracy nr 4.

Instrukcja nr 5

Wykrywanie białek z wykorzystaniem czynników denaturujących.

- Do czterech probówek odmierz 3 ml białka jaja kurzego.
- Do probówki nr 1 wlej gorącą wodę.
- Do probówki nr 2 wlej 1 ml stężonego 65% kwasu azotowego (V).
- Do probówki nr 3 dodaj szczyptę chlorku sodu, wymieszaj a następnie dodaj 3 ml alkoholu n-propylowego i znów wymieszaj, odstaw na 15 minut.
- Do probówki nr 4 dodaj 10 kropel wodnego 3% roztworu kwasu trichlorooctowego.
- Obserwacje zanotuj w kartach pracy nr 5.

Instrukcja nr 6

Analiza drgań normalnych wybranego aminokwasu przy użyciu programu Chemcraft.

- Uruchom program Chemcraft.
- Otwórz plik z wybranym aminokwasem.
- Z paska narzędzi wybierz komendę: "Show atom types" dla lepszego przedstawienia cząsteczki.
- W lewym oknie podane są liczby falowe drgań normalnych. Wybierz drganie normalne.
- W dużym oknie widzisz animację drgania. Aby zobaczyć obraz z wektorowym przedstawieniem ruchu, w lewym dolnym rogu okna zaznacz: "Show displacement vectors".
- Przedstaw graficznie (narysuj używając wektorów) wybrane drganie wzorując się na przykładach umieszczonych w załączniku do kart pracy do zadania nr 6.

Instrukcja nr 7

Analiza widm IR wybranych produktów żywnościowych.

- Otrzymałeś od nauczyciela widmo produktu żywnościowego (masła, sera, oleju spożywczego, mięsa)
- Odczytaj położenie (liczby falowe) najintensywniejszych pasm. Zaznacz w tabeli w karcie pracy do zadania nr 7.
- Posługując się tabelą załączoną do kart pracy do zadania nr 7 (Przypisania pasm średniej podczerwieni drganiom normalnym wiązań / grup funkcyjnych) dopasuj

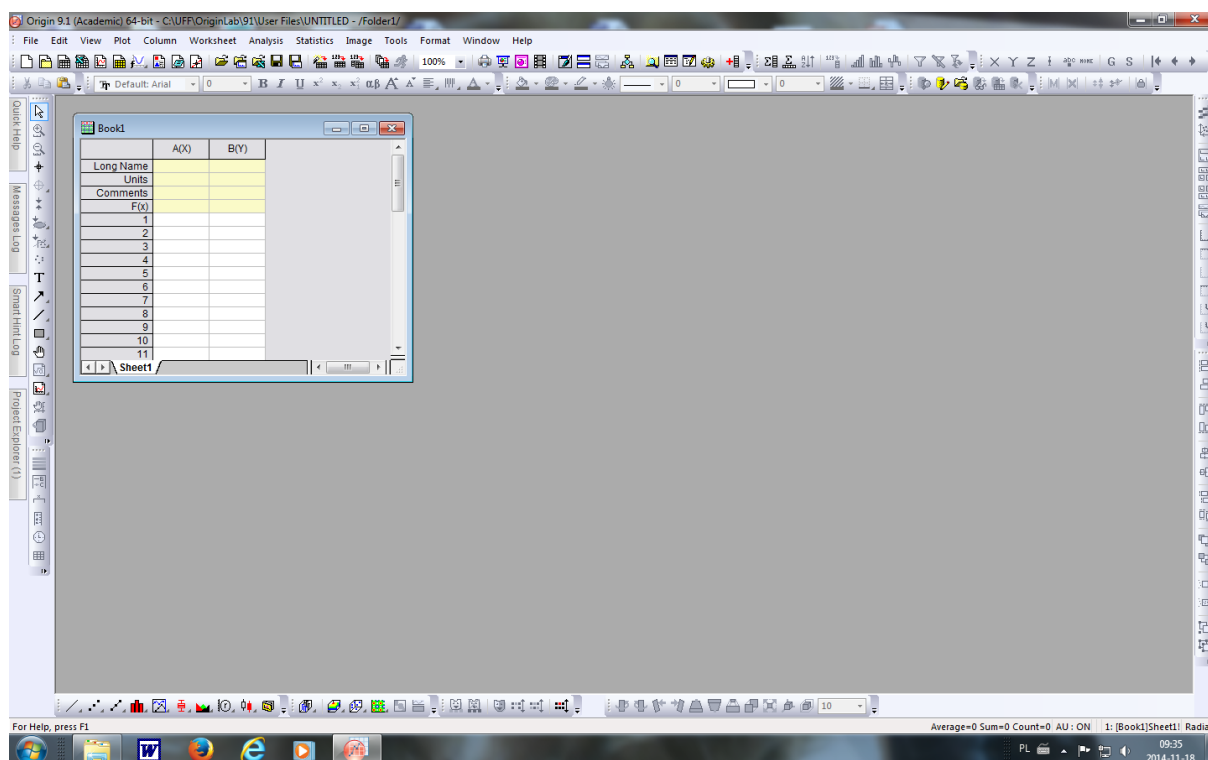
odczytane liczby falowe do drgań normalnych wiązań / grup funkcyjnych. Uzupełnij kartę pracy do zadania nr 7.

- Odczytaj położenie (liczby falowe) pasm o średniej intensywności. Zaznacz w tabeli w karcie pracy do zadania nr 7.
- Posługując się tabelą załączoną do kart pracy do zadania nr 7 (Przypisania pasm średniej podczerwieni drganiom normalnym wiązań / grup funkcyjnych) dopasuj odczytane liczby falowe do drgań normalnych wiązań / grup funkcyjnych. Uzupełnij kartę pracy do zadania nr 7.

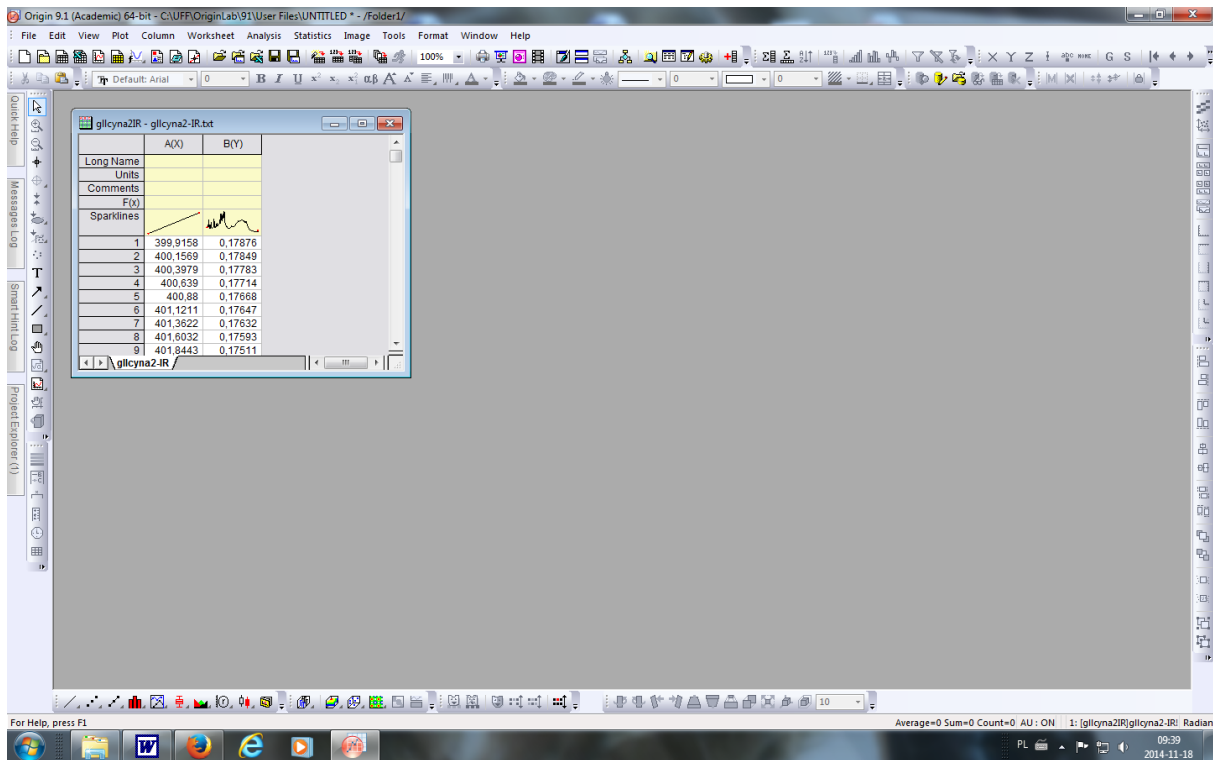
Instrukcja nr 8

Opracowanie widma IR zmierzonego aminokwasu w programie ORIGIN.

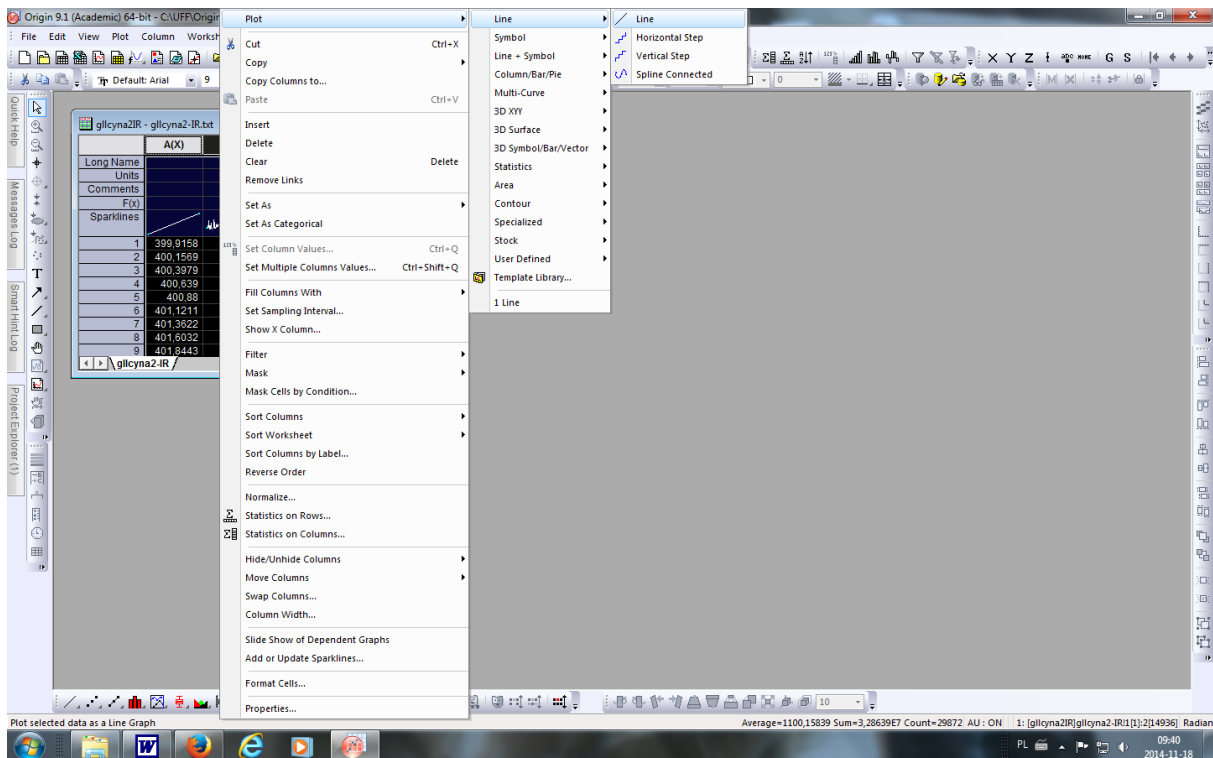
Otwórz program ORIGIN. Pojawia się strona startowa.



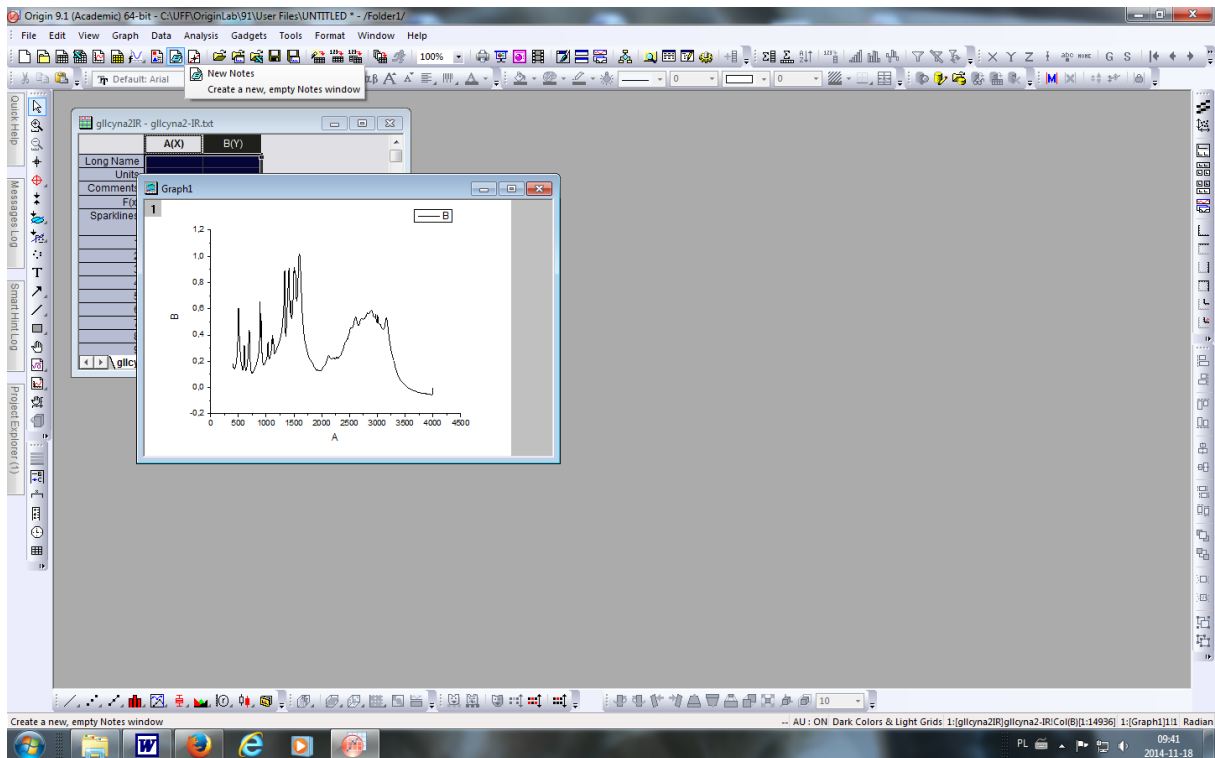
Z paska narzędzi wybierz "File", a następnie "Import...", "Single ASCII". Wybierz dokument tekstowy - zapisane widmo zmierzonego aminokwasu (*.txt). W tabeli pojawiają się współrzędne widma.



Najedź kursorem na okno z tabelą na kolumny A[X] i B[Y]. Zaznacz te kolumny lewym klawiszem myszki, następnie prawym klawiszem kliknij "Plot" i kolejno "Line", "Line".

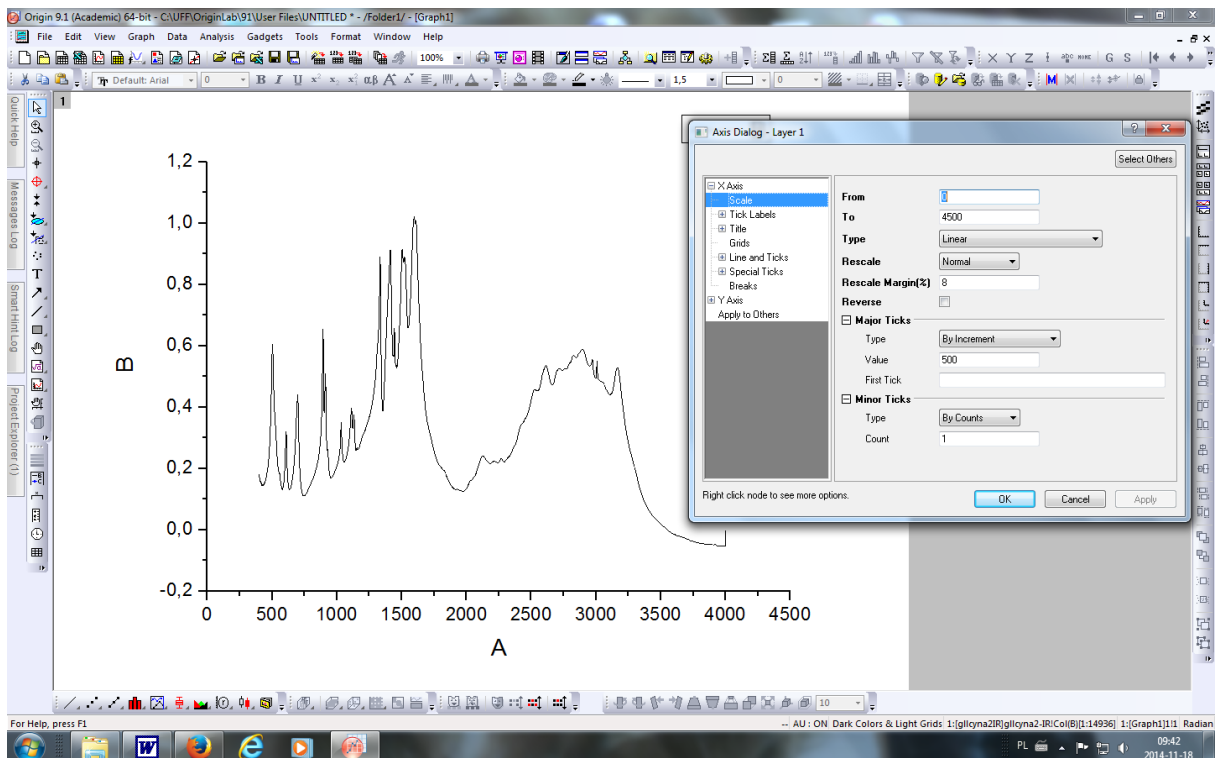


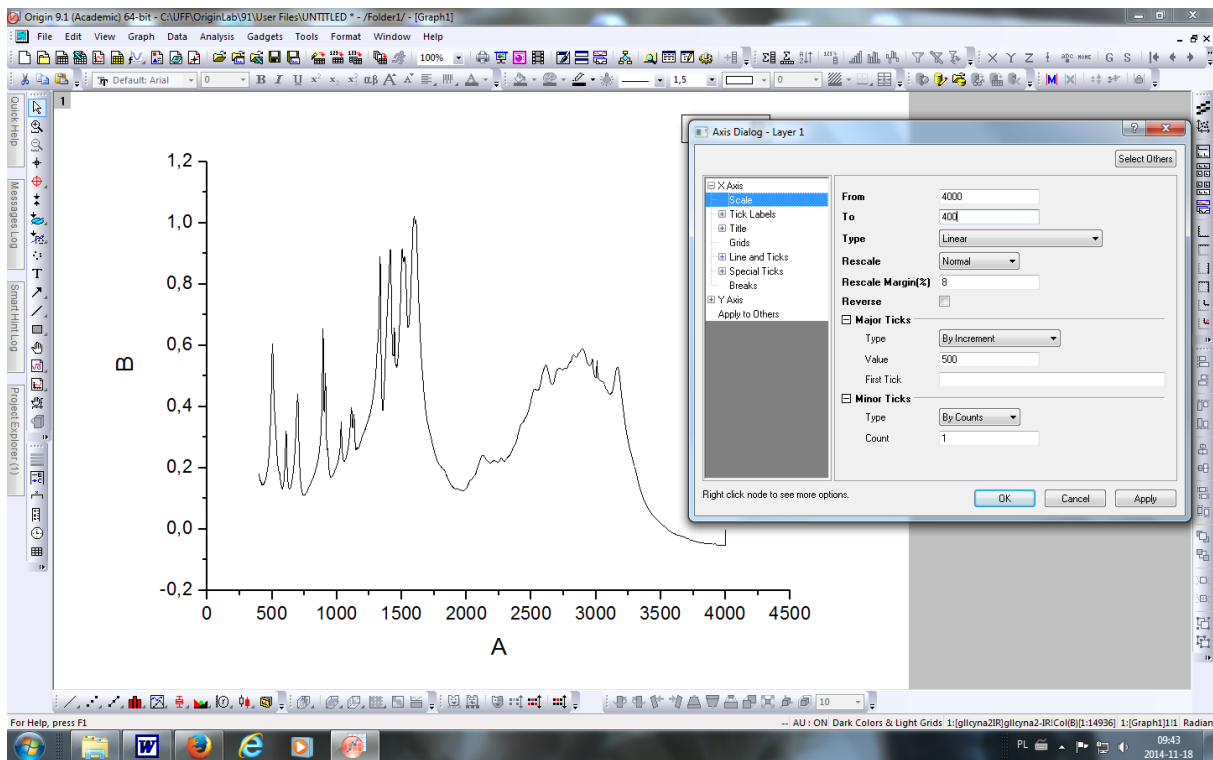
Program rysuje zmierzone widmo IR.



Powiększ okno z widmem.

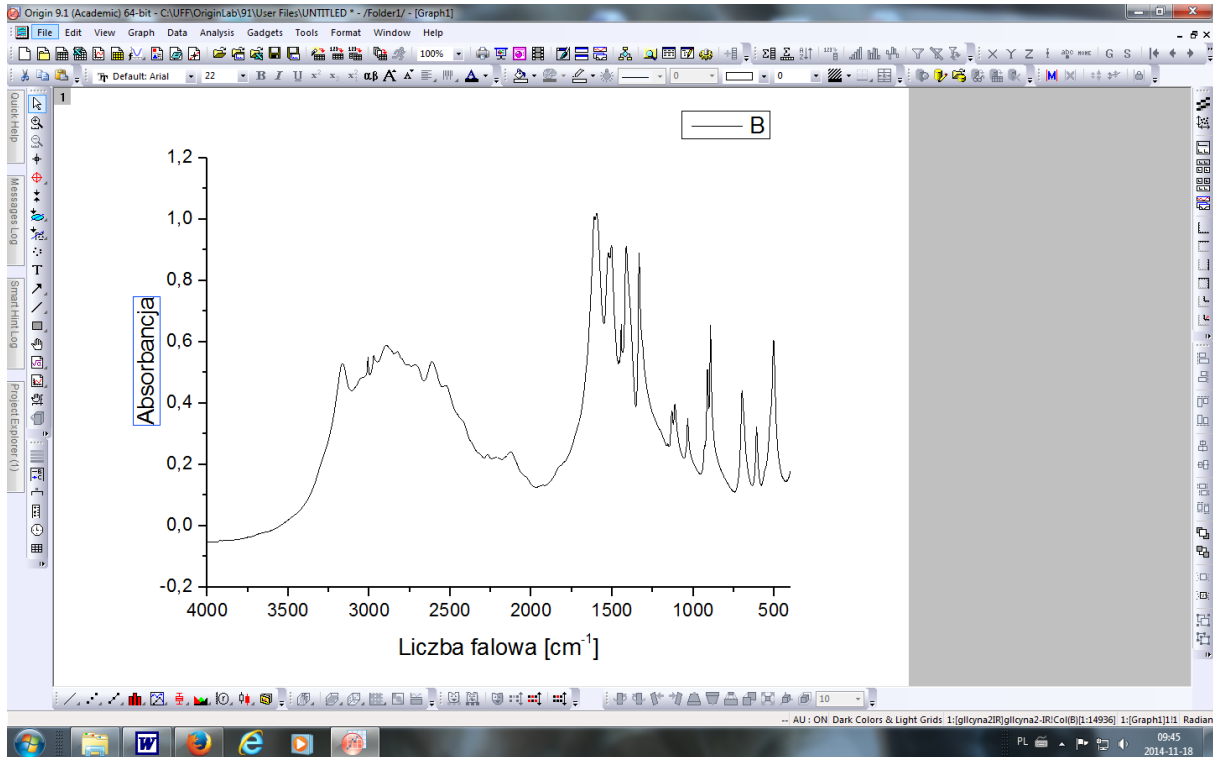
Zmień ułożenie liczb falowych od największej 4000 cm^{-1} do najmniejszej 400 cm^{-1} . Kliknij na oś X; w okienku "From" wpisz 4000; w okienku "To": 400; naciśnij OK.



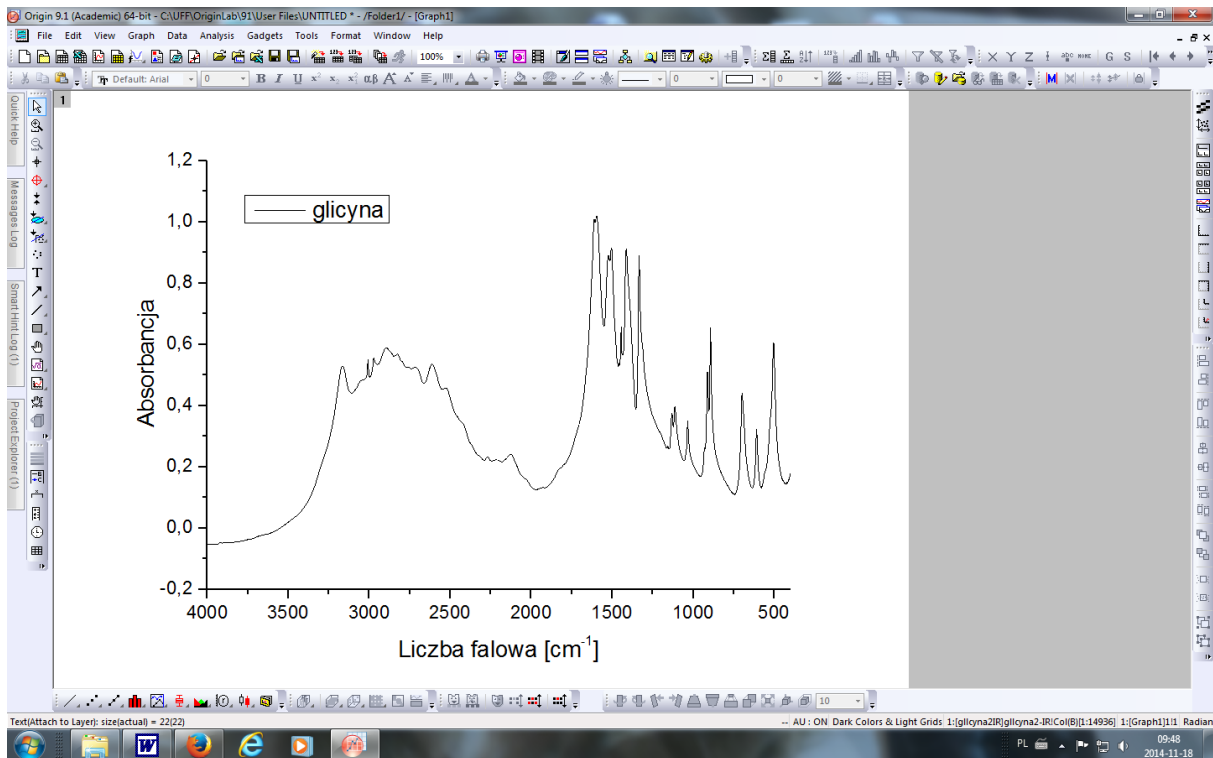


Podpisz oś X: najedź kursorem na "A" i wpisz "Liczba falowa [cm⁻¹]".

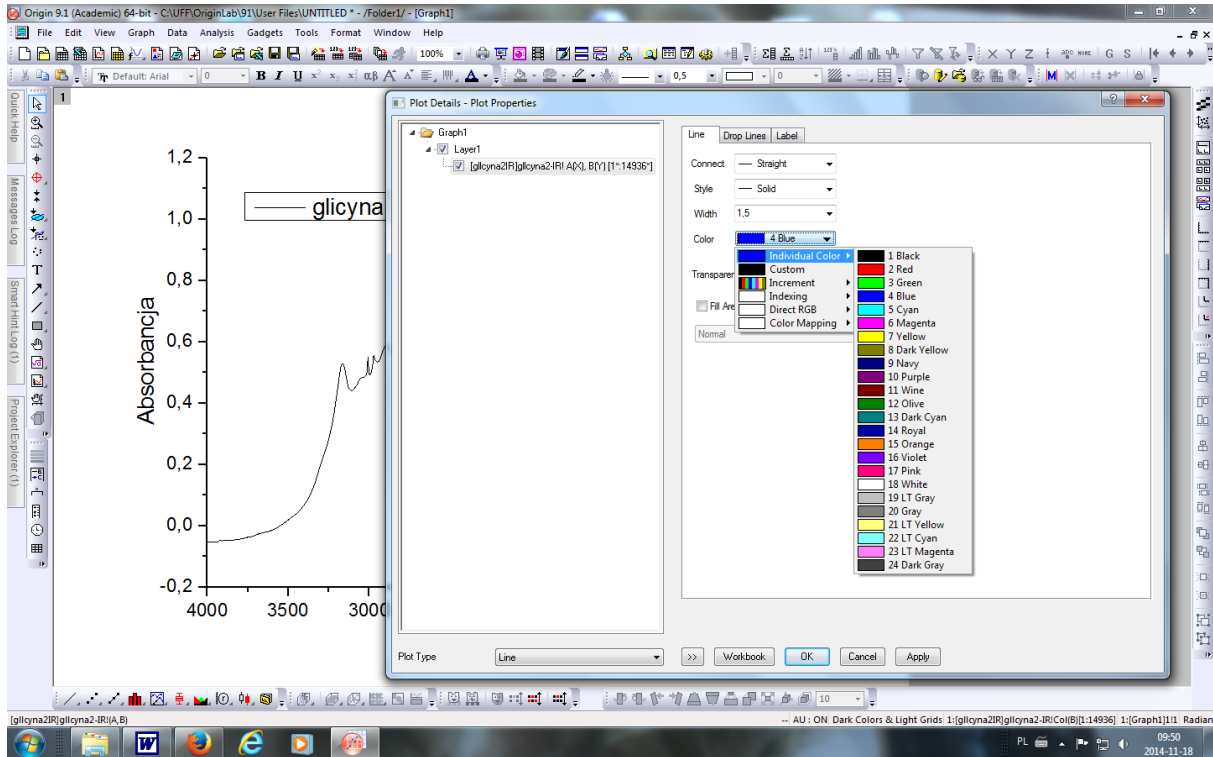
Podpisz oś Y: najedź kursorem na "B" i wpisz "Absorbancja".



Wpisz nazwę zmierzonego aminokwasu: kliknij na prostokąt "— B" i wpisz nazwę.

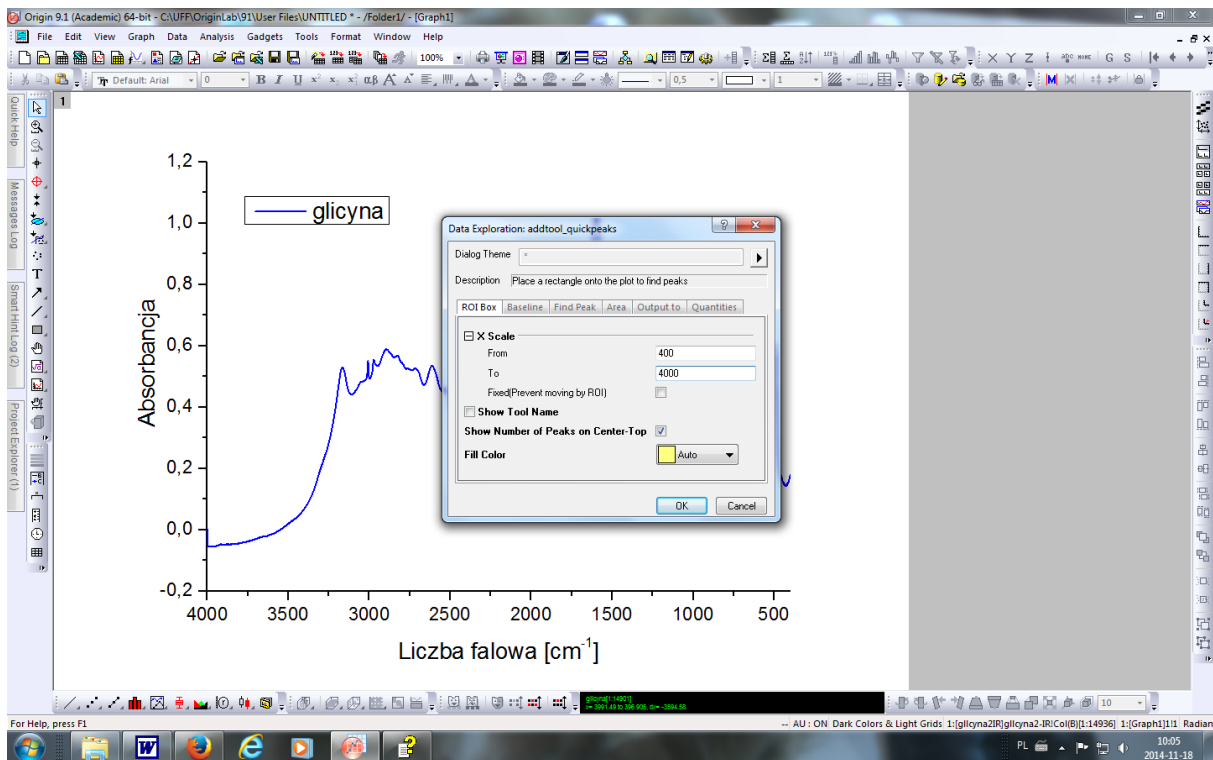


Klikając na widmo, zwiększ grubość kreski (Width: 1.5) i zmień kolor (na dowolny).

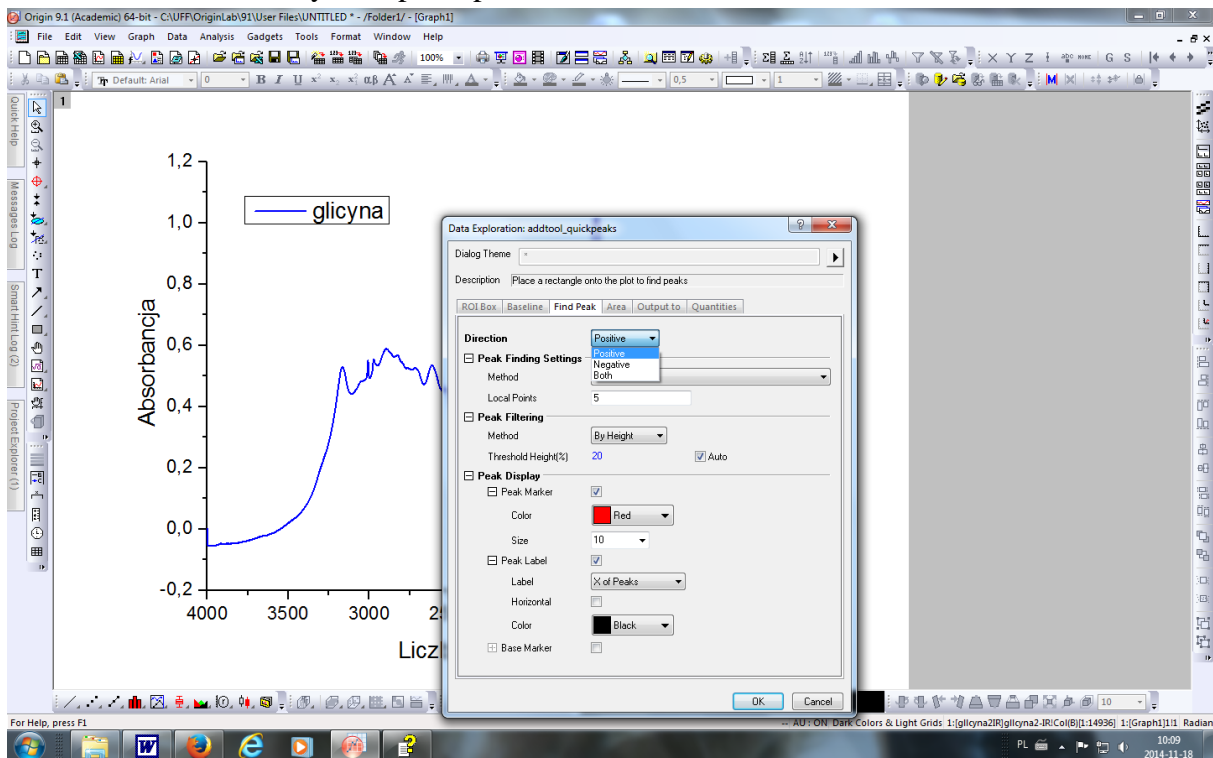


Opisz położenie pasm. Wybierz z paska narzędzi "Gadgets" następnie "Quick Peaks".

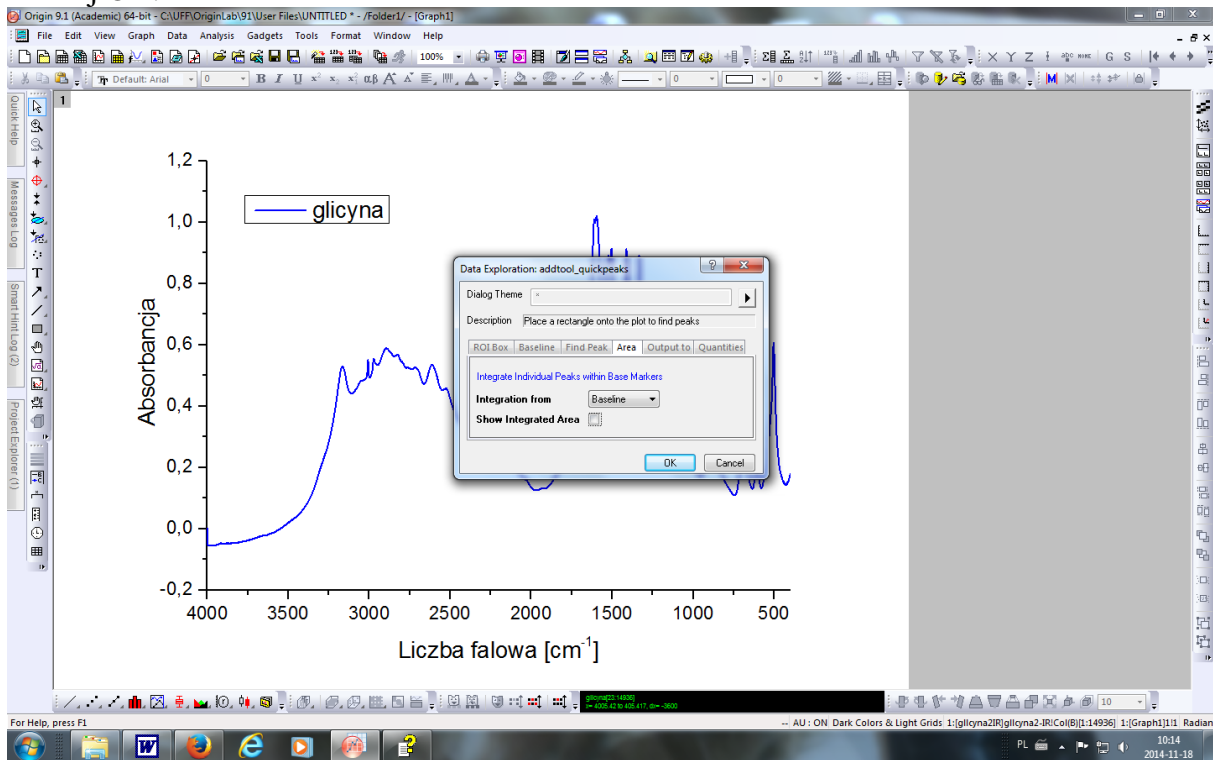
W oknie „ROI Box” wybierz zakres od 400 do 4000 cm^{-1} .



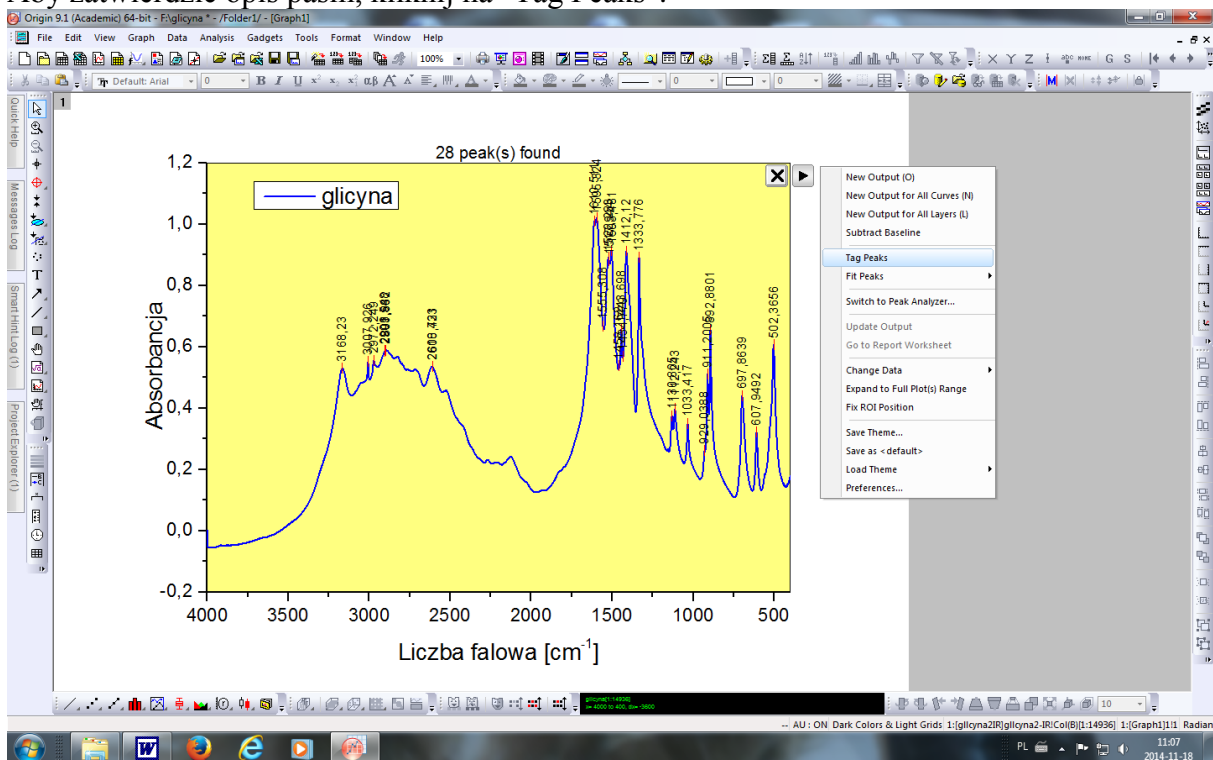
W oknie "Find Peak" wybierz piki / pasma dodatnie "Positive".



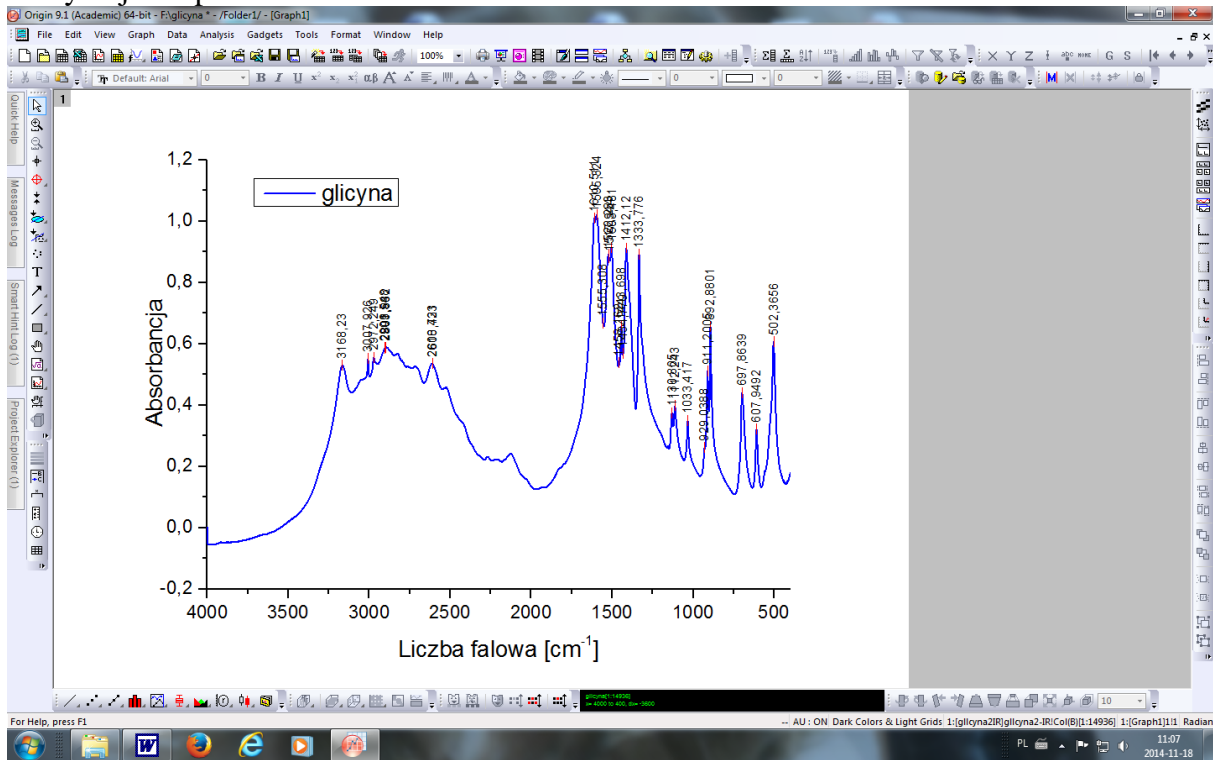
W oknie "Area" pozycja "Show integrated area" ma być odhaczona.
Kliknij OK.



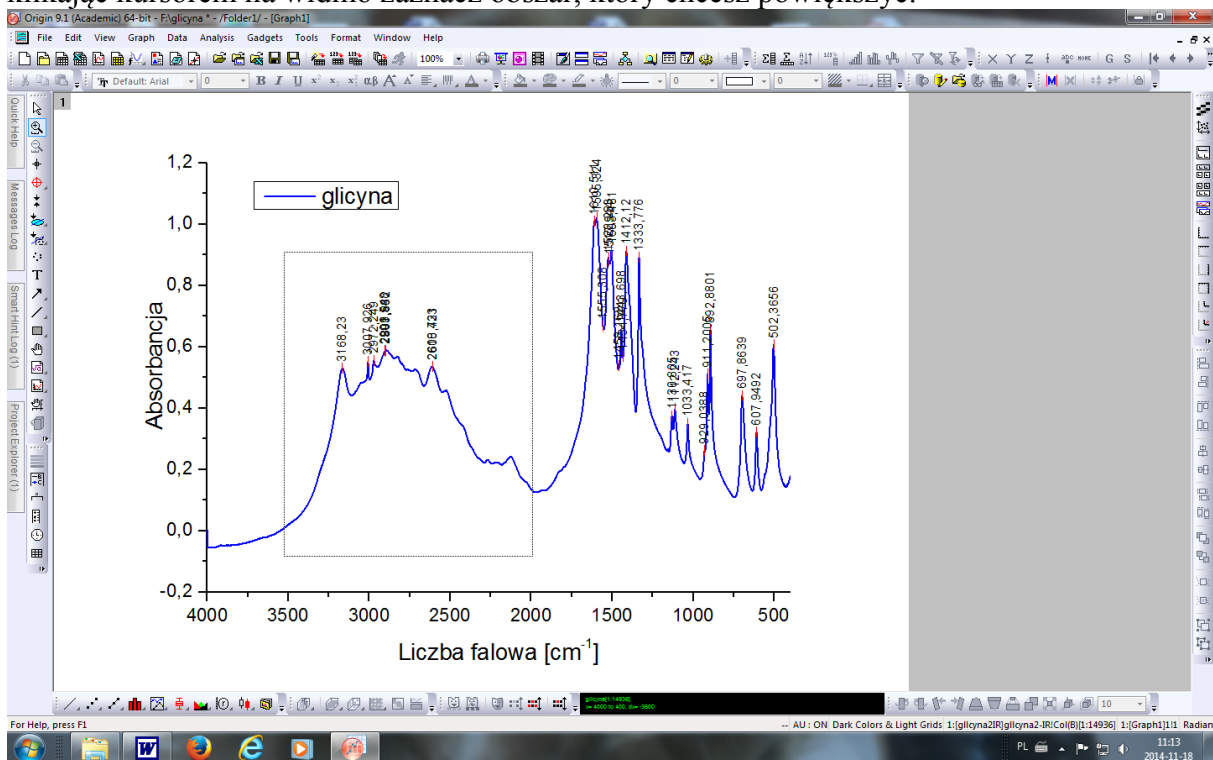
Aby zatwierdzić opis pasm, kliknij na "Tag Peaks".



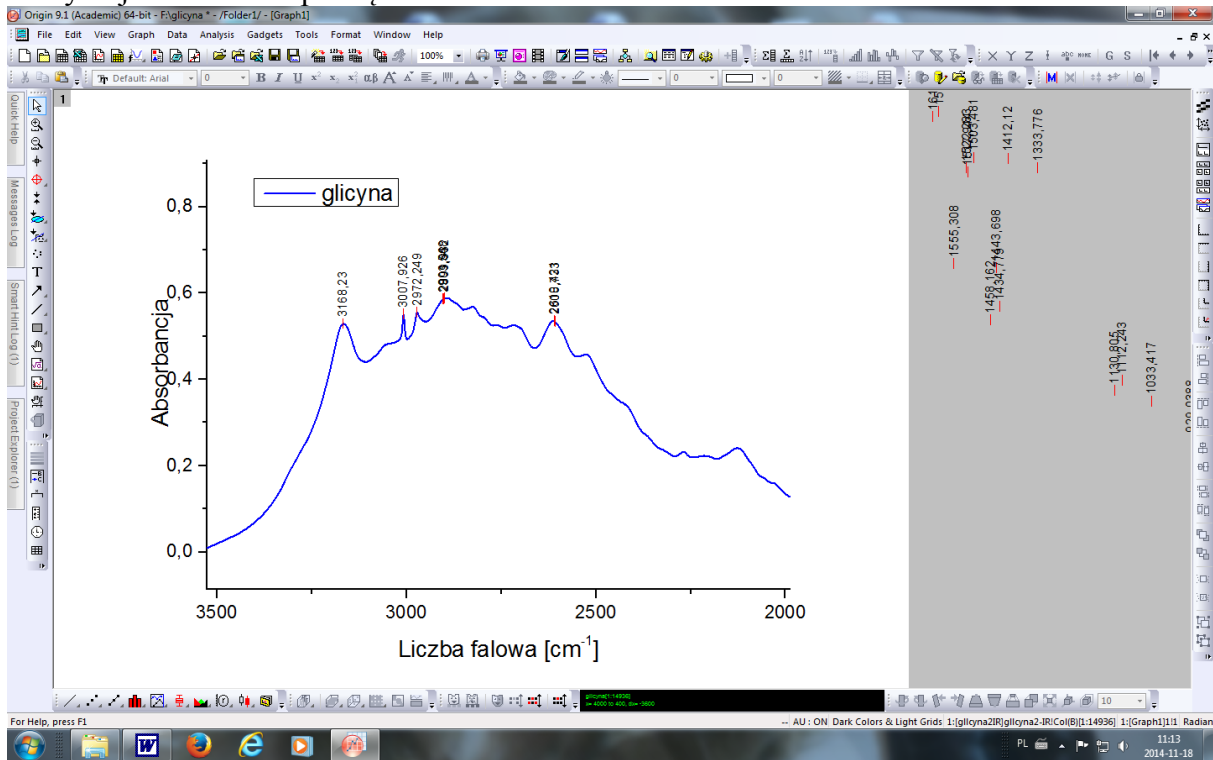
Otrzymujesz opisane widmo.



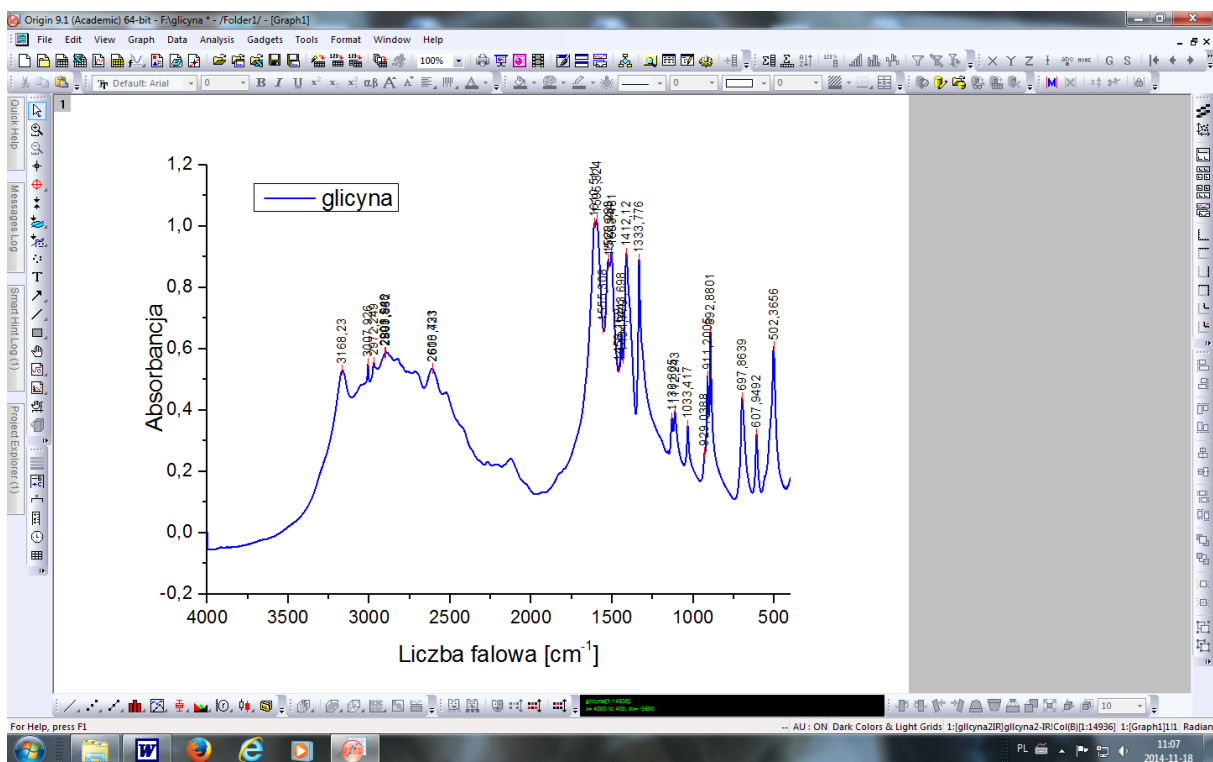
Wybrane fragmenty możesz powiększyć: Na pasku po lewej stronie okna wybierz lupę, klikając kursorem na widmo zaznacz obszar, który chcesz powiększyć.



Otrzymujesz obszar w powiększeniu.



Aby wrócić do całego widma, kliknij 2x na lupę na pasku po lewej stronie okna.



Instrukcja nr 9

Przygotowanie prezentacji w programie PowerPoint uwzględniającej widmo zmierzonego aminokwasu oraz schematyczne przedstawienie jego drgań normalnych.

Na podstawie wcześniej wykonanych zadań należy przygotować prezentację podsumowującą projekt. Prezentacja jest pracą autorską ucznia, dlatego pozostawia się swobodę w realizacji tego zadania. W prezentacji powinno jednak znaleźć się widmo IR zmierzonego i zidentyfikowanego aminokwasu oraz graficzny obraz wybranych drgań normalnych charakterystycznych dla tego aminokwasu. Prezentację uczeń przygotowuje w programie PowerPoint.

Aby wkleić do programu PowerPoint opracowane w zadaniu 8 widmo IR otwórz widmo IR zapisane z rozszerzeniem *.opj. Z paska narzędzi wybierz "Edit", a następnie "Copy Page". Otwórz program PowerPoint i wklej widmo IR.

W programie Paint przygotuj graficzny obraz wybranych drgań normalnych aminokwasu. Skopiuj obrazki do programu PowerPoint i opisz drgania z zaznaczeniem długości fali, przy której występują pasma przypisane tym drganiom. W tym celu bazuj na opracowaniu z zadania 8. Ze względu na krótki czas przeznaczony na realizację zadania, wybierz do prezentacji drgania charakterystycznych grup funkcyjnych zmierzonego aminokwasu.

Imię i nazwisko ucznia, klasa

Miejscowość, data

KARTA PRACY DO ZADANIA 1

Pomiar widma aminokwasu na spektrometrze FTIR, model 6700.

Wykonaj zadanie zgodnie z instrukcją nr 1 i wypełnij tabelę (w odpowiednich komórkach wstaw "X").

ZAKRES SPEKTRALNY ZMIERZONEGO WIDMA	14000 - 4000 cm ⁻¹	4000 - 400 cm ⁻¹	400 - 30 cm ⁻¹
STAN SKUPIENIA BADANEJ PRÓBKII	STAŁY	CIEKŁY	GAZOWY
FORMA BADANEJ PRÓBKII	ZAWIESINA	PASTYLKA	SZKLISTY FILM

KARTA PRACY DO ZADANIA 2**Wykrywanie wiązania peptydowego w reakcji biuretowej.**

Reakcja biuretowa jest wykorzystywana do sprawdzania obecności wolnego białka we krwi i innych płynach ustrojowych człowieka i zwierząt. Występowanie dużych ilości białka wskazuje zwykle na uszkodzenia organów wewnętrznych.

Reakcja nie działa poprawnie w obecności jonów potasu, dlatego nie można jej wykorzystać do testów na zawartość białka w sokach owocowych.

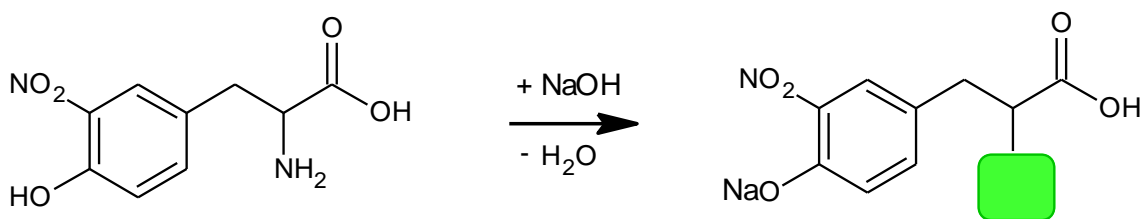
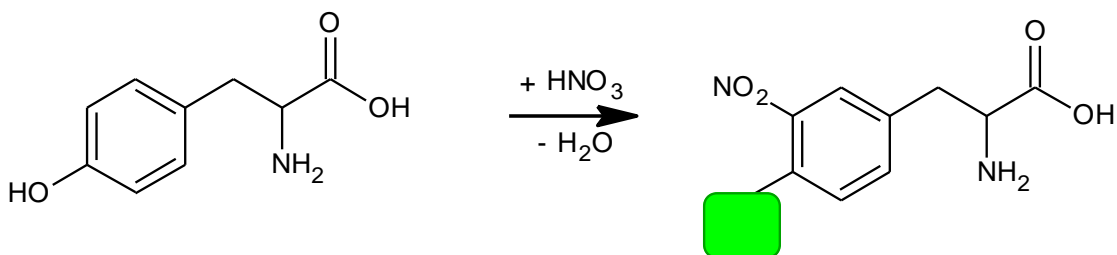
Wykonaj zadanie zgodnie z instrukcją nr 2 i wypełnij tabelę.

Probówka	Zawartość próbówki	Zaobserwowana barwa	Wnioski
A			
B			
C			

KARTA PRACY DO ZADANIA 3**Wykrywanie aminokwasów aromatycznych w białku jaja kurzego w reakcji ksantoproteinowej.**

Reakcja ksantoproteinowa, służy do wykrywania białka w produktach biologicznych i żywnościowych. Pozytywny wynik reakcji świadczy o obecności w białku aminokwasów aromatycznych (np. fenyloalanina, tyrozyna). Pod wpływem stężonego kwasu azotowego(V) białko ścina się i przybiera intensywne żółte zabarwienie.

Wypełnij puste - zielone miejsca w poniższym schemacie reakcji ksantoproteinowej.



Wykonaj zadanie zgodnie z instrukcją nr 3 i wypełnij tabelę.

Nr etapu	Zawartość próbki	Obserwacje	Wnioski
I			
II			
III			

KARTA PRACY DO ZADANIA 4**Wykrywanie aminokwasów siarkowych w reakcji z solami ołowiu.**

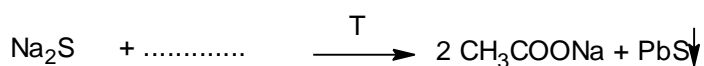
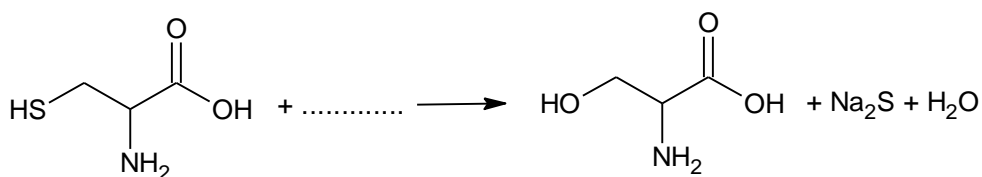
Pozytywny wynik reakcji z solami ołowiu wskazuje na obecność w badanym materiale aminokwasów zawierające w łańcuchu bocznym siarkę (cysteina, cystyna).

Wykonaj zadanie zgodnie z instrukcją nr 4 i wypełnij tabelę.

Zawartość próbówki	Obserwacje	Wnioski

Uzupełnij luki w poniższych reakcjach, wybierając właściwy wzór z podanych poniżej wzorów:

H_2O , HCl , H_2SO_4 , KOH , NaOH , $\text{Mg}(\text{OH})_2$, PbO , $(\text{CH}_3\text{COO})_2\text{Pb}$



KARTA PRACY DO ZADANIA 5**Wykrywanie białek z wykorzystaniem czynników denaturujących.**

Wykonaj zadanie zgodnie z instrukcją nr 5 i wypełnij tabelę.

Nr próbki	Zawartość próbki	Obserwacje	Wnioski
1			
2			
3			
4			

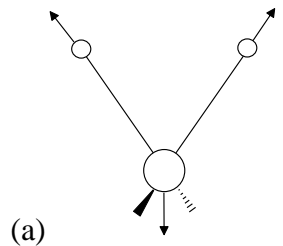
KARTA PRACY DO ZADANIA 6**Analiza drgań normalnych wybranego aminokwasu przy użyciu programu Chemcraft.**

Wykonaj zadanie zgodnie z instrukcją nr 6 i wypełnij tabelę.

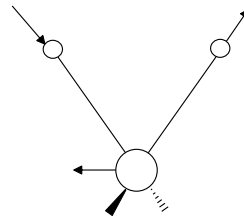
Położenie pasma Liczba falowa [cm^{-1}]	Przypisanie	Graficzny obraz drgania normalnego

Załącznik do zadania nr 6

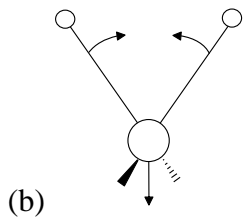
Drgania normalne grupy $-\text{CH}_2$: (a) rozciągające, (b) zginające w płaszczyźnie, (c) zginające poza płaszczyznę



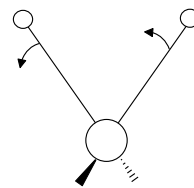
(a)
symetryczne $\nu_s(\text{CH}_2)$



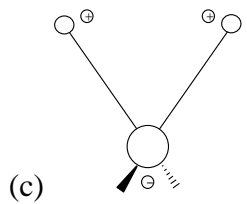
asymetryczne $\nu_{as}(\text{CH}_2)$



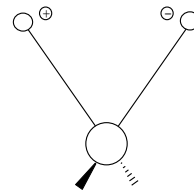
(b)
nożycowe $\delta_s(\text{CH}_2)$



wahadłowe $\rho(\text{CH}_2)$



(c)
wachlarzowe $\omega(\text{CH}_2)$



skręcające $\tau(\text{CH}_2)$

KARTA PRACY DO ZADANIA 7**Analiza widm IR wybranych produktów żywnościowych.**

Wykonaj zadanie zgodnie z instrukcją nr 7 i wypełnij tabelę, analizując wybrane widmo produktu żywnościowego.

Położenie pasma Liczba falowa [cm^{-1}]	Przypisanie

Tabela

Przypisania pasm średniej podczerwieni drganiom normalnym wiązań / grup funkcyjnych

Położenie pasma Liczba falowa [cm^{-1}]	Przypisanie
3640 - 3610	-OH rozciągające (wolna grupa hydroksylowa; alkohole i fenole)
3500 - 3200	-O-H rozciągające HB - wiązanie wodorowe
3400 - 3250	-N-H rozciągające (aminy pierwszo- i drugorzędowe, amidy)
3300 - 2500	-O-H rozciągające (kwasy karboksylowe)
3100 - 2850	C-H rozciągające
2990 - 2700	-CH ₃ , -CH ₂ rozciągające asymetryczne i symetryczne
2140 - 2100	-C≡C- rozciągające
2100 - 2000	S-H rozciągające
1760 - 1610	-C=O rozciągające
1650 - 1500	-N-H deformacyjne
1600 - 1585	-C-C- rozciągające (pierścień aromatyczny)
1550 - 1475	-NO ₂ rozciągające asymetryczne
1500 - 1400	-C-C- rozciągające (pierścień aromatyczny)
1520 - 1400	-CH ₃ , -CH ₂ deformacyjne
1370 - 1350	-CH ₃ , -CH ₂ deformacyjne
1335 - 1250	-C-N rozciągające (aminy aromatyczne)
1370 - 1000	-C-OH rozciągające
1120 - 1010	-C-N rozciągające (aminy alifatyczne)
1100 - 900	-CH ₃ , -CH ₂ deformacyjne
1030 - 950	drgania pierścienia
1000 - 650	C=C-H deformacyjne
950 - 890	-O-H deformacyjne
920 - 665	-NH ₂ deformacyjne wachlarzowe
850 - 550	-C-Cl rozciągające
725 - 720	-C-H deformacyjne kołyszące
580 - 420	drgania deformacyjne pierścienia
650 - 460	-COH, -C-C=O, -COO ⁻ deformacyjne